



Uso de residuos orgánicos y de arcillas modificadas para aumentar la eficacia de herbicidas y reducir la contaminación de suelos y aguas por los mismos en cultivos andaluces

Memoria que presenta

Beatriz María Gámiz Ruiz

*para optar al título de Doctor por la
Universidad de Sevilla*

Sevilla, Junio 2012

Uso de residuos orgánicos y de arcillas modificadas para aumentar la eficacia de herbicidas y reducir la contaminación de suelos y aguas por los mismos en cultivos andaluces

Visado en Sevilla, a 6 de junio de 2012

LOS DIRECTORES

Dr. Rafael Celis García
Investigador Científico del C.S.I.C.

Dr. Juan Cornejo Suero
Profesor de Investigación del C.S.I.C.

EL TUTOR

Dra. Matilde Forteza González
Profesora Titular de la Universidad de Sevilla

PROFESOR DOCTOR D. JOSÉ MANUEL PARDO PRIETO, DIRECTOR DEL INSTITUTO DE RECURSOS NATURALES Y AGROBIOLOGÍA DE SEVILLA DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Certifica: Que la presente Memoria de Investigación titulada "Uso de residuos orgánicos y de arcillas modificadas para aumentar la eficacia de herbicidas y reducir la contaminación de suelos y aguas por los mismos en cultivos andaluces", presentada por Dña. Beatriz María Gámiz Ruiz para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla, ha sido realizada en el Departamento de Agroquímica y Conservación de Suelos en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (I.R.N.A.S.), bajo la dirección de los Drs. D. Rafael Celis García y D. Juan Cornejo Suero, reuniendo todas las condiciones exigidas a los trabajos de Tesis Doctorales.

En Sevilla, a 6 de junio de 2012

El presente trabajo se ha realizado en el marco de los proyectos P07-AGR-03077 de la Junta de Andalucía y AGL2011-23779 del Ministerio de Economía y Competitividad, cofinanciados con fondos FEDER-FSE de la Unión Europea.

AGRADECIMIENTOS

Es difícil llegado este momento expresar con palabras mi gratitud a aquellas personas que me han apoyado y de una forma u otra han hecho posible la consecución de esta Tesis Doctoral.

En especial a mis directores, el Profesor de Investigación D. Juan Cornejo Suero y al Investigador Científico D. Rafael Celis García, ante todo por haber confiado en mí y otorgarme esta oportunidad. Gracias por el apoyo recibido, por ser generosos en vuestro conocimiento y sobre todo por vuestra implicación y entrega, que para mí han tenido un valor incalculable.

A la dirección del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (I.R.N.A.S.) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (C.S.I.C.) por las facilidades prestadas para llevar a cabo este trabajo.

A la Profesora Doctora Matilde Forteza González por haber aceptado la Tutoría de esta tesis.

A la Profesora de Investigación Dña. M^a Carmen Hermosín Gaviño, por su gran interés, por compartir su experiencia conmigo y por los valiosos consejos que tantas veces me ayudaron a seguir hacia delante con ilusión.

Al Profesor Dr. Cliff Johnston por permitirme realizar dos estancias breves en el Departamento de Agricultura de la Universidad de Purdue en Indiana, en las que me sentí como en casa y pude obtener parte de los resultados de caracterización de esta memoria. A Prema por su ayuda diaria en el laboratorio haciendo más fácil mi adaptación allí.

A las Catedráticas de la Universidad de Córdoba, Dña. Cristobalina Barriga Carrasco y Dña. M^a Ángeles Ulibarri Cormenzana porque nunca pensé que aquellas clases de Química Inorgánica en 1º de Carrera marcarían de esta forma mi vida, ya no sólo en lo académico sino también en lo personal.

A la Investigadora Científica Dña. Lucía Cox Meana por haberme facilitado los alperujos empleados en esta Tesis Doctoral y por brindarme la oportunidad de colaborar en el Proyecto I-LINK mediante el cual realicé una estancia breve bajo la dirección del Prof. D. William C. Koskinen de la Universidad de Minnesota. Gracias a éste por su hospitalidad y a Alegría y Ana por vuestro compañerismo y prestarme vuestra casa mientras estuve allí.

A Carmen por ayudarme e integrarme desde el primer día que entré en el laboratorio y por haber llegado a ser una buena amiga que siempre ha estado ahí cuando la he necesitado. A Marian por su compañerismo y apoyo sobre todo en la recta final, y a mis “padres” del laboratorio, Gracia y Miguel, porque me han ayudado y aguantado durante estos cuatro años.

A Pili por escucharme, entenderme y por tu buen ánimo para todo, a Anabel y M^a Jesús (además de tus ayudas *cromatográficas*) por vuestra alegría y simpatía. A Chari, Isabel y Manuel por vuestro compañerismo y a los que ya no están en el laboratorio Nacho y Paqui.

Al grupo de becarios del IRNAS (SIBERE) por compartir inquietudes y esos ratitos tan buenos en las comidas (además de alguna que otra salida).

A mis amigos de siempre, Vicky, Mónica, Miguel, Jesús, Alba, por los buenos momentos pasados juntos y que a pesar del tiempo seguimos manteniendo la amistad. A mis “nuevos amigos”, Juanma, Manolo, Isabella, Yolanda, Lourdes y María que me han hecho más leve el final de la aventura.

A Isabel por ser un gran apoyo y estar siempre con nosotras a pesar de todas las vicisitudes vividas.

A la Profesora Ivana Pavlovic, aunque para mí sea Ivana, por ser como mi hermana mayor, por aconsejarme, ayudarme y haber estado junto a mí y mi familia en los buenos y malos momentos. Espero que nuestra amistad perdure a lo largo de muchos años más.

A mis padres y mi hermana que son mi tesoro, por vuestro apoyo incondicional, por contribuir a cumplir mis sueños y no permitirme desfallecer, porque lo que soy os lo debo a vosotros. Anabel por ser mi mejor amiga, a mi madre por la educación y valores que me ha inculcado y por su fortaleza que es ejemplo para mí. En definitiva, qué mejor momento para decir lo mucho que os quiero.

Agradezco también a la Junta de Andalucía por la concesión de una beca Predoctoral de Formación de Personal Investigador dentro del Proyecto de Excelencia P07-AGR-03077.

Finalmente, muchas gracias a todas y cada una de las personas que han pasado por mi vida, que me han hecho crecer como persona y han puesto su granito de arena.

I. INTRODUCCIÓN.....	1
I.1. Plaguicidas en el Medio Ambiente. Marco contextual.....	3
I.2. Problemática por el uso de plaguicidas: Andalucía como zona de potencial de riesgo de contaminación.....	9
I.3. Principales procesos que afectan a la dinámica de los plaguicidas en el suelo.....	14
I.3.1. Procesos de transporte.....	17
I.3.1.1. Procesos de adsorción-desorción.....	17
I.3.1.1.1. Medida de la adsorción.....	18
I.3.1.1.2. Factores que influyen en la adsorción-desorción.....	23
I.3.1.1.3. Predicción de la adsorción.....	30
I.3.1.2. Lixiviación.....	34
I.3.1.2.1. Estudio de la lixiviación.....	34
I.3.1.2.2. Factores que influyen en la lixiviación.....	36
I.3.1.2.3. Predicción de la lixiviación.....	39
I.3.1.3. Escorrentía.....	42
I.3.1.3.1. Factores que influyen en la escorrentía.....	43
I.3.1.3.2. Predicción de la escorrentía.....	45
I.3.1.4. Otros procesos de transporte.....	46
I.3.2. Procesos de transformación.....	46
I.3.2.1. Degradación química.....	47
I.3.2.2. Fotodegradación.....	47
I.3.2.3. Biodegradación.....	48

I.4. Estrategias para reducir los efectos adversos de los plaguicidas: Uso de minerales de la arcilla y de residuos orgánicos (alperujo).....	51
I.4.1. Minerales de la arcilla.....	55
I.4.1.1. Filosilicatos: Descripción, estructura y propiedades.....	55
I.4.1.2. Las esmectitas como adsorbentes de plaguicidas.....	59
I.4.1.2.1. Reacciones de modificación de las esmectitas.....	61
I.4.1.2.2. Interacciones de plaguicidas con esmectitas modificadas con cationes orgánicos.....	65
I.4.1.3. Aplicaciones.....	68
I.4.1.3.1. Adsorbentes para depuración de aguas.....	69
I.4.1.3.2. Soportes en formulaciones de liberación controlada de plaguicidas.....	71
I.4.1.3.3. Barreras inmovilizantes de plaguicidas: uso como enmiendas agrícolas.....	72
I.4.2. Residuos orgánicos: el alperujo.....	76
I.4.2.1. Producción de aceite de oliva y residuos generados.....	77
I.4.2.2. Gestión, valorización y reutilización del alperujo.....	80
I.4.2.2.1. Tratamientos físico-químicos de alperujo.....	82
I.4.2.2.2. Tratamientos para la biorremediación de alperujo.....	83
I.4.2.2.3. Bioconversión en productos de alto valor añadido.....	85
I.4.2.3. El alperujo como adsorbente de plaguicidas.....	85
II. OBJETIVOS.....	89
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	95
III.1. Materiales.....	97

III.1.1. Herbicidas.....	97
III.1.1.1. Fluometurón.....	97
III.1.1.2. Mecoprop y mecoprop-P.....	98
III.1.1.3. Terbutilazina.....	100
III.1.2. Suelos.....	101
III.1.3. Adsorbentes.....	103
III.1.3.1. Arcillas modificadas con cationes orgánicos.....	103
III.1.3.2. Residuos orgánicos.....	106
III.2. Métodos.....	107
III.2.1. Método analítico para la determinación de los herbicidas.....	107
III.2.2. Caracterización de los suelos.....	109
III.2.3. Caracterización de los adsorbentes.....	110
III.2.3.1. Caracterización de las arcillas inalteradas y modificadas.....	110
III.2.3.1.1. Caracterización del sistema SW-SPERM.....	111
III.2.3.1.2. Caracterización del sistema SA-HEXADIM.....	113
III.2.3.2. Caracterización de los alperujos.....	113
III.2.4. Influencia de la adición de arcillas modificadas y alperujo en el comportamiento de herbicidas en suelos agrícolas.....	116
III.2.4.1. Experimentos de laboratorio.....	116
III.2.4.1.1. Estudios de adsorción-desorción.....	116
III.2.4.1.1.1. Adsorción de los herbicidas a los adsorbentes.....	116
III.2.4.1.1.2. Adsorción de los herbicidas en suelos enmendados y sin enmendar.....	119
III.2.4.1.2. Estudios de persistencia.....	119

III.2.4.1.3. Estudios de lixiviación.....	120
III.2.4.1.4. Bioensayos: efectividad biológica.....	122
III.2.4.1.4.1. Bioensayo general.....	122
III.2.4.1.4.2. Bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación....	123
III.2.4.1.5. Efecto de la adición del catión espermina en el comportamiento del herbicida fluometurón en suelos.....	124
III.2.4.1.5.1. Experimento de adsorción.....	125
III.2.4.1.5.2. Experimento de lixiviación en columnas.....	125
III.2.4.1.5.3. Experimento de incubación.....	126
III.2.4.2. Experimentos de campo.....	126
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	129
IV.1. Caracterización de los suelos.....	131
IV.2. Características de los adsorbentes.....	135
IV.2.1. Características de las arcillas modificadas.....	135
IV.2.1.1. Caracterización del sistema SW-SPERM.....	140
IV.2.1.2. Caracterización del sistema SA-HEXADIM.....	148
IV.2.2. Características de los alperujos.....	155
IV.3. Evaluación del comportamiento de herbicidas en suelos enmendados con arcillas modificadas y residuos de almazara:	
Estudios de laboratorio.....	159
IV.3.1. Fluometurón.....	159
IV.3.1.1. Estudios de adsorción – desorción a los adsorbentes.....	159
IV.3.1.1.1. Adsorción a los adsorbentes a concentración única.....	159
IV.3.1.1.2. Isotermas de adsorción-desorción.....	164

IV.3.1.2. Adsorción a suelos enmendados y sin enmendar.....	168
IV.3.1.3. Estudios de persistencia.....	173
IV.3.1.4. Estudios de lixiviación.....	179
IV.3.1.5. Bioensayos: eficacia biológica.....	188
IV.3.1.5.1. Bioensayo general.....	188
IV.3.1.5.2. Bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación.....	
IV.3.1.6. Adición del catión espermina para la modificación “in situ” de la arcilla del suelo y su efecto en el comportamiento del herbicida fluometurón.....	193
IV.3.1.6.1. Estudio de adsorción.....	194
IV.3.1.6.2. Experimento de lixiviación en columnas.....	197
IV.3.1.6.3. Experimento de incubación.....	200
IV.3.2. Mecoprop y Mecoprop-P.....	202
IV.3.2.1. Estudios de adsorción – desorción a los adsorbentes.....	202
IV.3.2.1.1. Adsorción a los adsorbentes a concentración única.....	202
IV.3.2.1.2. Isotermas de adsorción-desorción.....	207
IV.3.2.2. Adsorción a suelos enmendados y sin enmendar.....	211
IV.3.2.3. Estudios de persistencia.....	219
IV.3.2.4. Estudios de lixiviación.....	226
IV.3.2.5. Bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación: Eficacia biológica.....	239
IV.4. Evaluación del comportamiento de herbicidas en suelos enmendados con arcillas modificadas y residuos de almazara: Estudios de campo.....	242
IV.4.1. Efecto de la adición de alperujo en el comportamiento de fluometurón y terbutilazina.....	242
IV.4.1.1. Condiciones ambientales.....	243

IV.4.1.2. Extracciones de suelo: lixiviación y persistencia.....	244
IV.4.1.3. Escorrentía.....	250
IV.4.1.4. Bioeficacia.....	255
IV.4.2. Efecto de la adición de arcilla modificada en el comportamiento de fluometurón y terbutilazina.....	256
IV.4.2.1. Condiciones ambientales.....	256
IV.4.2.2. Extracciones de suelo: lixiviación y persistencia.....	257
IV.4.2.3. Escorrentía.....	262
IV.4.2.4. Bioeficacia.....	267
V. CONCLUSIONES.....	269
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	275
VII. PUBLICACIONES.....	319

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I.1. Distribución de explotaciones oliveras en Andalucía por pendientes (Junta de Andalucía, 2003).....	12
Tabla I.2. Distribución de la superficie de suelo andaluz en función de las pérdidas medias por erosión en el período 1992-2009 (CAP, 2011).	12
Tabla I.3. Clasificación de los filosilicatos y algunas especies minerales...	58
Tabla III.1. Procedencia, uso, clasificación textural y experimentos en los que fueron usados cada uno de los suelos.....	102
Tabla III.2. Características de las arcillas empleadas.....	103
Tabla III.3. Nomenclatura de las arcillas inalteradas y modificadas empleadas.....	105
Tabla III.4. Nomenclatura, procedencia y tratamiento de los alperujos y experimentos en los que se utilizaron.....	106
Tabla III.5. Condiciones analíticas utilizadas para la determinación de los herbicidas por HPLC.....	107
Tabla III.6. Límites de detección y cuantificación para el análisis de los herbicidas por HPLC.....	109
Tabla III.7. Parámetros determinados para los alperujos y técnica empleada.....	114
Tabla IV.1. Características físico-químicas de los suelos utilizados. AR: arena; L: limo; A: arcilla; C.O.: carbono orgánico oxidable; C.I.C.; capacidad de intercambio catiónico.....	131
Tabla IV.2. Porcentajes relativos y absolutos de filosilicatos (M: montmorillonita; I: illita/mica; K: caolinita) presentes en los suelos S1, S2, S3 y S4.....	134
Tabla IV.3. Resultados del análisis elemental de las organoarcillas, porcentaje de la CIC de las montmorillonitas compensada por cationes orgánicos en las mismas y espaciados basales de las muestras a temperatura ambiente (T_{amb}) y calcinadas a 200 °C.....	137
Tabla IV.4. Principales bandas y asignación de las mismas obtenidas de los espectros de FTIR de los cationes orgánicos libres e incorporados en las montmorillonitas.....	139

Tabla IV.5. Valores de los parámetros analizados para las muestras sólidas de los alperujos.....	155
Tabla IV.6. Algunas características de los extractos de los alperujos†: pH, concentración de la materia orgánica soluble (MOS), porcentaje del carbono orgánico total (COT) e índice de humificación (IH).....	156
Tabla IV.7. Valores de K_d y K_{oc} para la adsorción de fluometurón a SW-HDTMA, SW-SPERM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom para condiciones de adsorción 20 mg adsorbente:8 ml de disolución de fluometurón de 1 mg/l.....	163
Tabla IV.8. Coeficientes de Freundlich para la adsorción de fluometurón en los adsorbentes seleccionados.....	165
Tabla IV.9. Coeficientes de Freundlich para la desorción de fluometurón en los adsorbentes seleccionados.....	167
Tabla IV.10. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para fluometurón, en los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujo a diferentes porcentajes.....	171
Tabla IV.11. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para fluometurón, en los suelos S3 y S4 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujo a diferentes porcentajes.....	172
Tabla IV.12. Constantes del ajuste de los datos de disipación de fluometurón en S1 y S2 a una cinética de tipo sigmoidal (Ec. IV.2 y IV.3).....	176
Tabla IV.13. Concentración máxima de herbicida en los lixiviados y volumen de poro al que apareció dicha concentración máxima (V $P_{máx}$). Factores de retardo teóricos calculados a partir de los valores de K_d de los adsorbentes individuales (FR $_{teor-1}$), y de los suelos enmendados (FR $_{teor-2}$), para los lixiviados de las columnas de suelo S1 y S2 enmendados con con SW-SPERM y ALP.....	182
Tabla IV.14. Porcentaje de fluometurón lixiviado, extraído de las columnas y no recuperado durante el experimento de lixiviación con los suelos S1 y S2.....	186
Tabla IV.15. Contenido de esmectitas en los suelos y coeficientes de distribución obtenidos experimentalmente, K_{d-exp} , para la adsorción de fluometurón en suelos sin tratar y tratados con espermina.....	195

Tabla IV.16. Volumen de poro al cual apareció la concentración máxima de herbicida (VP_{max}) en los lixiviados y factores de retardo teóricos (FR_{teor}) para el experimento de lixiviación en suelos sin tratar y tratados con espermina.....	199
Tabla IV.17. Valores de K_d y K_{oc} para la adsorción de MCP-P y MCP-P a SW-HDTMA, SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom para condiciones de adsorción 20 mg adsorbente:8 ml de disolución de herbicida de 1 mg/l.....	207
Tabla IV.18. Coeficientes de Freundlich para la adsorción de MCP-P y MCP-P en los adsorbentes seleccionados.....	209
Tabla IV.19. Coeficientes de Freundlich para la desorción de MCP-P y MCP-P en los adsorbentes seleccionados.....	211
Tabla IV.20. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para MCP-P, en los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos al 1%, 2% y 5%.....	215
Tabla IV.21. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para MCP-P, en los suelos S3 y S4 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos al 1%, 2% y 5%.....	216
Tabla IV.22. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para MCP-P, en los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos al 1%, 2% y 5%.....	217
Tabla IV.23. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para MCP-P, en los suelos S3 y S4 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos al 1%, 2% y 5%.....	218
Tabla IV.24. Constantes del ajuste de los datos de disipación de MCP-P y MCP-P en S1 a una cinética de tipo sigmoideal.....	223
Tabla IV.25. Constantes del ajuste de los datos de disipación de MCP-P y MCP-P en S2 a una cinética de tipo sigmoideal.....	224
Tabla IV.26. Porcentaje de MCP-P y MCP-P lixiviado, extraído de las columnas y no recuperado durante el experimento de lixiviación con el suelo S1. Concentración máxima de herbicida en los lixiviados y volumen de poro al que apareció dicha concentración máxima ($VP_{máx}$).....	232

Tabla IV.27. Porcentaje de MCPP y MCPP-P lixiviado, extraído de las columnas y no recuperado durante el experimento de lixiviación con el suelo S2. Concentración máxima de herbicida en los lixiviados y volumen de poro al que apareció dicha concentración máxima ($VP_{m\acute{a}x}$).....	233
Tabla IV.28. Factores de retardo, observados (FR_{obs}), teóricos calculados a partir de los valores de K_d de los adsorbentes individuales (FR_{teor-1}), y teóricos calculados a partir de los valores de K_d de los suelos enmendados (FR_{teor-2}), para la lixiviación de MCPP y MCPP-P en los suelos S1 y S2 enmendados con SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPc.....	235
Tabla IV.29. Volumen de las aguas de escorrentía y concentración de materia particulada en las mismas recogidas en la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam.....	250
Tabla IV.30. Concentraciones de terbutilazina en disolución y en las partículas en suspensión de las aguas de escorrentía recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam. Coeficientes de distribución K_d para terbutilazina adsorbida en la materia particulada presente en las aguas de escorrentía.....	252
Tabla IV.31. Concentraciones de fluometurón en disolución y en las partículas en suspensión de las aguas de escorrentía recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam. Coeficientes de distribución K_d para fluometuón adsorbida en la materia particulada presente en las aguas de escorrentía.....	253
Tabla IV.32. Volumen de las aguas de escorrentía y concentración de materia particulada en las mismas recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con SW-SPERM.....	263
Tabla IV.33. Concentraciones de terbutilazina en disolución y en las partículas en suspensión de las aguas de escorrentía recogidas de las parcelas sin enmendar y enmendada con SW-SPERM. Coeficientes de distribución K_d para terbutilazina adsorbida en la materia particulada procedentes de las aguas de escorrentía.....	265
Tabla IV.34. Concentraciones de fluometurón en disolución y en las partículas en suspensión de las aguas de escorrentía recogidas de las parcelas sin enmendar y enmendadas con SW-SPERM. Coeficientes de distribución K_d para fluometurón adsorbido en la materia particulada procedentes de las aguas de escorrentía.....	265

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I.1. Evolución de las cifras de mercado español de productos fitosanitarios 2000-2010 (Fuente: AEPLA, 2011).....	4
Figura I.2. Evolución en el consumo de fitosanitarios en España (Fuente: MAGRAMA, 2009).....	5
Figura I.3. Evolución de la eficiencia ambiental en la agricultura española durante el período 2000-2008 (Fuente: MAGRAMA, 2010).....	6
Figura I.4. Superficie de cultivo en Andalucía. Media de los años 2005-2008. Informe del sector agrario (CAP, 2009a).....	9
Figura I.5. Consumo de fitosanitarios en Andalucía en 2009 (CAP, 2009a).....	10
Figura I.6. Entrada de plaguicidas en el sistema suelo-agua y elementos afectados por la entrada de los mismos.....	14
Figura I.7. Interacciones entre los factores y procesos que afectan a la dinámica de plaguicidas en el suelo (adaptado de Cheng y Koskinen, 1986).....	15
Fig. I.8. Procesos que determinan la dinámica de los plaguicidas en el suelo.....	16
Figura I.9. Mecanismos de adsorción de plaguicidas en el suelo.....	18
Figura I.10. Tipos de isothermas de adsorción según la clasificación de Giles et al. (1960).....	20
Figura I.11. Extracción de la fracción orgánica del suelo.....	26
Figura I.12. Representación esquemática de los estados “glassy” y “rubbery” (arriba) y representación de la adsorción en fase sólido-disolución (abajo) (adaptado de Pignatello, 2012).....	28
Figura I.13. Curvas hipotéticas de elución de plaguicidas en suelos estructurados con diferentes sistemas de poros y distinta interacción del plaguicida-suelo.....	35
Figura I.14. Representación esquemática de las interacciones entre plaguicidas (P), materia orgánica soluble (MOS) y el suelo.....	37
Figura I.15. Cinéticas de la biodegradación de plaguicidas.....	50

Figura I.16. Algunos de campos científicos y aplicaciones de los minerales de la arcilla (adaptado de Carretero y Pozo, 2007).....	53
Figura I.17. Estructura de los filosilicatos 1:1 y 2:1.....	56
Figura I.18. Centros activos de un mineral esmectítico en relación con la adsorción de plaguicidas.....	60
Figura I.19. Posibles disposiciones de los cationes orgánicos de cadena larga en el espacio interlamilar de las organoarcillas y magnitud de la distancia interlamilar. Δ representa la amplitud del espacio interlamilar	64
Figura I.20. Imágenes de una muestra de montmorillonita de Wyoming (SWy-1) saturada con cationes hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) tomadas por microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (Yaron-Marcovich et al., 2005).....	64
Figura I.21. Organoarcillas a) organofílicas y b) adsortivas.....	66
Figura I.22. Algunos cationes orgánicos funcionalizados utilizados para la preparación de organoarcillas.....	67
Figura I.23. Porcentaje de herbicida simazina adsorbido por montmorillonita sin tratar (SWy-2) y montmorillonita modificada con diferentes cationes orgánicos. La concentración inicial de herbicida fue de 1 mg/l.....	68
Figura I.24. Efecto del tipo de formulación en las pérdidas por transporte de los plaguicidas aplicados al suelo.....	71
Figura I.25. Representación esquemática de los tres procesos de extracción del aceite de oliva: tradicional por presión, centrifugación de tres fases y centrifugación de dos fases (adaptado de Morillo et al., 2009).....	80
Figura I.26. Usos potenciales y valorización de los residuos de almazara (alperujo).....	85
Figura III.1. Estructura química de fluometurón.....	98
Figura III.2. Estructura química de mecoprop.....	99
Figura III.3. Estructura química de mecoprop-P.....	99
Figura III.4. Estructura química de terbutilazina.....	101

Figura III.5. Mapa con la localización de los suelos empleados en esta memoria.....	102
Figura III.6. Estructura química de los cationes orgánicos empleados para la modificación de las montmorillonitas.....	104
Figura III.7. Cromatogramas obtenidos para los herbicidas a) fluometurón, b) MCP-P y c) MCP con una disolución patrón de 1 mg/l junto con sus respectivos espectros de absorción.....	108
Figura III.8. Fotografía de los recipientes usados en los experimentos de incubación.....	120
Figura III.9. Esquema de las columnas de suelo utilizadas para los experimentos de lixiviación (a) y fotografía de las columnas de suelo utilizadas durante uno de los estudios de movilidad (b).....	122
Figura III.10. Esquema de la maceta para el bioensayo general (a) y foto de las macetas empleadas para el mismo (b).....	123
Figura III.11. Esquema de la maceta para el bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación (a) y foto de las macetas empleadas para el mismo (b).....	124
Figura III.12. Esquema de la disposición de las parcelas (a) y fotografía de una de las parcelas utilizadas en los experimentos de campo (b).....	128
Figura IV.1. Distribución del tamaño de poros obtenida por intrusión de mercurio de los suelos S1, S2, S3 y S4.....	132
Figura IV.2. Difractogramas de los agregados orientados de las fracciones arcillas de los suelos S1, S2, S3 y S4, tras ser sometidas a diferentes tratamientos: saturadas en Mg^{2+} (Mg), saturadas en Mg^{2+} y a continuación solvatadas con etilenglicol (Mg-EG); saturadas en K^{+} (K) y saturadas en K^{+} y a continuación calcinadas a 550°C (K-550°C).....	135
Figura IV.3. Diagramas de difracción de rayos X de los films sintetizados correspondientes a SWy-2 tratada con diferentes cantidades de espermina desde 0 a 1.2 x CIC: A) para los films secados al aire y B) para los films saturados en agua.....	141
Figura IV.4. Primera derivada obtenida a partir de las curvas de TG para la pérdida de masa de tetrahidroclorhidrato de espermina y SWy-2 tratada con diferentes cantidades de espermina (izquierda) y la relación lineal entre la cantidad de espermina añadida durante la síntesis y la obtenida en las muestras por TG (derecha).....	142

Figura IV.5. Espectros de FTIR de tetraclorhidrato de espermina y SWy-2 tratada con espermina en las siguientes regiones: a) región para los modos de tensión de N-H y C-H de espermina y modos de tensión del grupo OH del agua adsorbida a la montmorillonita. B) región que comprende las bandas de los modos de deformación de los grupos N-H y C-H de espermina. En el cuadro superior de la figura A) se muestra la banda del modo de tensión para el OH estructural de SWy-2.....	144
Figura IV.6. Relación de espectros obtenidos a partir de ATR-FTIR: A) H ₂ O, B) depósito de SWy-2 en agua, c) depósito de SWy-2 saturado con espermina, D) depósito de SWy-2 restando el agua, E) depósito de SWy-2 saturado con espermina restando el agua, F) vista ampliada del espectro E), que muestra la banda de espermina adsorbida en la arcilla, G) disolución acuosa de espermina 30 mM en la celda de ATR-FTIR.....	145
Figura IV.7. Relación obtenida para las áreas correspondientes a los modos de deformación N-H y C-H de espermina respecto a la cantidad de catión añadido a SWy-2. Comparación de las áreas obtenidas en los films y durante el experimento de ATR-FTIR. Todas las áreas fueron normalizadas respecto al valor obtenido para la muestra con mayor cantidad de espermina añadida (1.2 x CIC de la arcilla).....	146
Figura IV.8. Representación esquemática de la posible disposición del catión espermina en el espacio interlamilar de SWy-2 bajo condiciones de deshidratación. Las distancias se dan en nm.....	147
Figura IV.9. Disposición y distancia entre las cargas del catión espermina.....	148
Figura IV.10. Diagramas de difracción de rayos X de las muestras sintetizadas correspondientes a SAz-1 tratada con diferentes cantidades de hexadimetrina desde 0 a 1.5 x CIC: A) para las muestras secadas al aire y B) para las muestras saturadas en agua.....	150
Figura IV.11. Primera derivada obtenida a partir de las curvas de TG para la pérdida de masa de SAz-1 tratada con diferentes cantidades de hexadimetrina (izquierda) y la relación lineal entre la cantidad de hexadimetrina añadida durante la síntesis y la obtenida en las muestras por TG (derecha).....	152
Figura IV.12. Espectros de FTIR de bromuro de hexadimetrina y SAz-1 tratada con hexadimetrina en las siguientes regiones: A) región para los modos de tensión de C-H. B) región que comprende las bandas de los modos de deformación para los grupos C-H.....	153
Figura IV.13. Representación esquemática de la disposición del catión hexadimetrina en SAz-1.....	154

Figura IV.14. Disposición y distancia entre las cargas del catión hexadimetrina.....	154
Figura IV.15. Espectros de emisión de fluorescencia, normalizados al máximo, de la MOS extraída de: A) ALP, B) ALPcom y C) ALPcam.....	157
Figura IV.16. Bandas de absorción expresadas en transmitancia de los espectros de FTIR de los extractos de la MOS para: A) ALP, B) ALPcom y C) ALPcam.....	158
Figura IV.17. Porcentaje de fluometurón adsorbido por las muestras de montmorillonitas modificadas y sin modificar y alperujo (ALP) y alperujo compostado (ALPcom) a una concentración inicial de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 20 mg:8 ml.....	160
Figura IV.18. Isotermas de adsorción de fluometurón para los adsorbentes seleccionados.....	164
Figura IV.19. Isotermas de adsorción-desorción de fluometurón para los adsorbentes seleccionados.....	167
Figura IV.20. Porcentaje de fluometurón adsorbido en los suelos sin enmendar y enmendados a diferentes porcentajes (1%, 2% y 5%) con SW-HDTMA, SW-SPERM, SA-HDTMA y ALP a una concentración inicial de herbicida de 1 mg/l.....	169
Figura IV.21. Curvas de disipación de fluometurón en los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados al 1%, 2% y 5% con SW-SPERM y ALP. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las líneas corresponden al ajuste de los mismos a la ecuación IV.3.....	174
Figura IV.22. Curvas de elución relativas (izquierda) y acumuladas (derecha) para fluometurón aplicado a las columnas de suelo S1 sin enmendar y enmendado a diferentes porcentajes con SW-SPERM y ALP....	180
Figura IV.23. Curvas de elución relativas (izquierda) y acumuladas (derecha) para fluometurón aplicado a las columnas de suelo S2, sin enmendar y enmendado a diferentes porcentajes con SW-SPERM y ALP....	181
Figura IV.24. Concentración de C orgánico soluble en los lixiviados recogidos para los primeros 150 ml de agua añadidos a columnas de suelo S1 sin enmendar y enmendado con ALP-2%-mezcla.....	185
Figura IV.25. Distribución de fluometurón en las columnas de suelo de S1 enmendadas con SW-SPERM (izquierda) y ALP (derecha) al finalizar el experimento de lixiviación.....	187

Figura IV.26. Peso herbáceo fresco de las macetas dos semanas después de la aplicación del herbicida.....	189
Figura IV.27. Resultados de los bioensayos realizados en S2 con jaramago (<i>Eruca vesicaria</i>). Efectos de la adición de las enmienda SW-SPERM y ALP a 1%, 2% y 5% en la eficacia del herbicida fluometurón....	190
Figura IV.28. Peso herbáceo fresco de las macetas en el bioensayo con simulación de lluvia abundante tras la aplicación de fluometurón.....	191
Figura IV.29. Resultados de los bioensayos realizados en S2 con jaramago (<i>Eruca vesicaria</i>). Efectos de la adición de la enmienda SW-SPERM al 1% en condiciones de elevado aporte de agua poco después de la aplicación del herbicida fluometurón.....	192
Figura IV.30. Porcentaje de fluometurón adsorbido por los suelos en ausencia de espermina y en presencia de una cantidad de espermina equivalente al 100 % de la C.I.C. de cada suelo a una concentración de herbicida de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 4 g:8 ml.....	194
Figura IV.31. Porcentaje de fluometurón adsorbido en S1 tratado con cantidades de espermina equivalentes a 0, 1, 5, 10, 25 y 100 % de la C.I.C. del suelo a una concentración de herbicida de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 4 g:8 ml.....	196
Figura IV.32. Curvas de elución relativas (izquierda) y acumuladas (derecha) para fluometurón aplicado a las columnas de suelo S1 y S3, sin tratar y tratados con espermina.....	198
Figura IV.33. Curvas de disipación de fluometurón en S1 sin tratar y tratado con espermina.....	200
Figura IV.34. Porcentaje de MCP-P adsorbido por las muestras de montmorillonitas modificadas y sin modificar y alperujo fresco (ALP) y compostado (ALPcom) a una concentración inicial de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 20 mg:8 ml.....	203
Figura IV.35. Porcentaje de MCP-P adsorbido por las muestras de montmorillonitas modificadas y sin modificar y alperujo fresco (ALP) y compostado (ALPcom) a una concentración inicial de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 20 mg:8 ml.....	204
Figura IV.36. Isotermas de adsorción de MCP-P y MCP-P-P para los adsorbentes seleccionados.....	207

Figura IV.37. Isotermas de adsorción-desorción de MCP-P para los adsorbentes seleccionados: organoarcillas (izquierda), alperujos (derecha). Las líneas continuas corresponden a la adsorción, las líneas discontinuas corresponden a la desorción.....	210
Figura IV.38. Isotermas de adsorción-desorción de MCP-P para los adsorbentes seleccionados: organoarcillas (izquierda), alperujos (derecha). Las líneas continuas corresponden a la adsorción, las líneas discontinuas corresponden a la desorción.....	210
Figura IV.39. Porcentaje de MCP-P adsorbido en los suelos sin enmendar y enmendados a diferentes porcentajes (1%, 2% y 5%) con SW-HDTMA, SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom, a una concentración inicial de herbicida de 1 mg/l.....	212
Figura IV.40. Porcentaje de MCP-P adsorbido en los suelos sin enmendar y enmendados a diferentes porcentajes (1%, 2% y 5%) con SW-HDTMA, SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom, a una concentración inicial de herbicida de 1 mg/l.....	213
Figura IV.41. Curvas de disipación de MCP-P (arriba) y MCP-P (abajo) en S1 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las líneas corresponden al ajuste sigmoideal de las curvas....	220
Figura IV.42. Curvas de disipación de MCP-P (arriba) y MCP-P (abajo) en S2 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las líneas corresponden al ajuste sigmoideal de las curvas.	221
Figura IV.43. Curvas de elución relativas y acumuladas para MCP-P aplicado a las columnas de suelo S1 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM y SA-HDTMA (arriba), al 2% y 5% con ALP y al 5% con ALPcom (abajo).....	228
Figura IV.44. Curvas de elución relativas y acumuladas para MCP-P aplicado a las columnas de suelo S1 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM y SA-HDTMA (arriba), al 2% y 5% con ALP y al 5% con ALPcom (abajo).....	229
Figura IV.45. Curvas de elución relativas y acumuladas para MCP-P aplicado a las columnas de suelo S2 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM y SA-HDTMA (arriba), al 2% y 5% con ALP y al 5% con ALPcom (abajo).....	230

Figura IV.46. Curvas de elución relativas y acumuladas para MCP-P aplicado a las columnas de suelo S2 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM y SA-HDTMA (arriba), al 2% y 5% con ALP y al 5% con ALPcom (abajo).....	231
Figura IV.47. Curvas de distribución de tamaño de poro relativas y acumulativas obtenidas por intrusión de mercurio en S1 sin enmendar y enmendado con ALP al 2 y 5% y con ALPcom al 5%.....	237
Figura IV.48. Concentración de C orgánico soluble en los lixiviados de las columnas de suelo S2 sin enmendar y enmendado con ALP al 2% y 5%.....	238
Figura IV.49. Peso herbáceo fresco de las macetas sin enmendar y enmendadas con SA-HDTMA y ALP al 5%, tras la simulación de lluvia abundante y la aplicación de MCP-P.....	240
Figura IV.50. Resultado del bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación tras el aporte elevado de agua para MCP-P en S2.....	240
Figura IV.51. Datos de pluviometría (barras) y temperatura (líneas) registrados durante el desarrollo del experimento de campo con alperujo. Las líneas verticales discontinuas corresponden a los días de toma de muestras de aguas de escorrentía.....	243
Figura IV.52. Concentración de fluometurón (mg/kg) a diferentes profundidades del suelo en la parcela sin enmendar (a) y en la parcela enmendada con ALPcam (b) a los diferentes días de toma de muestra...	245
Figura IV.53. Concentración de terbutilazina (mg/kg) a diferentes profundidades del suelo en la parcela sin enmendar (a) y en la parcela enmendada con ALPcam (b) a los diferentes días de toma de muestra...	247
Figura IV.54. Concentración de terbutilazina y fluometurón en las aguas de escorrentía para la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam...	251
Figura IV.55. Pérdidas por escorrentía acumuladas de terbutilazina y fluometurón en las parcelas sin enmendar y enmendada con ALPcam durante el experimento.....	254
Figura IV.56. Muestras de aguas de escorrentía recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam tras un episodio de lluvia (t= 20 días).....	255
Figura IV.57. Peso herbáceo de las parcelas por metro cuadrado al finalizar el experimento de campo con alperujo.....	255

Figura IV.58. Datos de pluviometría (barras) y temperatura (líneas) registrados durante el desarrollo del experimento de campo con organoarcilla. Las líneas verticales discontinuas corresponden a los días de toma de muestra de aguas de escorrentía.....	257
Figura IV.59. Concentración de fluometurón (mg/kg) a diferentes profundidades del suelo en la parcela sin enmendar (a) y en la parcela enmendada con SW-SPERM (b) a los diferentes días de toma de muestras.....	259
Figura IV.60. Concentración de terbutilazina (mg/kg) a diferentes profundidades del suelo en la parcela sin enmendar (a) y en la parcela enmendada con SW-SPERM (b) a los diferentes días de toma de muestras.....	260
Figura IV.61. Concentración de terbutilazina y fluometurón en las aguas de escorrentía recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con SW-SPERM.....	264
Figura IV.62. Pérdidas acumuladas de terbutilazina y fluometurón en las parcelas sin enmendar y enmendada con SW-SPERM durante el experimento.....	266
Figura IV.63. Peso herbáceo de las parcelas por metro cuadrado al finalizar el experimento de campo con SW-SPERM.....	267

Los repetidos episodios de contaminación de aguas superficiales y subterráneas originados por plaguicidas que se aplican a los suelos agrícolas, han provocado una considerable alarma social en nuestro país. Concretamente, en Andalucía las condiciones edafoclimáticas existentes convierten a esta región en un escenario de alto riesgo en lo que a contaminación por plaguicidas se refiere. La escasa capacidad de adsorción que presentan los suelos, pobres en materia orgánica, sus elevadas pendientes y los episodios de breves pero intensas lluvias, habituales del clima mediterráneo, acentúan los procesos de transporte por lixiviación y escorrentía de los plaguicidas aplicados y dan como resultado una disminución de la eficacia del plaguicida y un aumento del riesgo de contaminación de suelos y aguas adyacentes. Bajo este marco, una forma de disminuir la incidencia de los procesos de transporte de los plaguicidas y sus efectos adversos sería incrementar la capacidad de adsorción de los suelos para aumentar el tiempo de residencia del producto fitosanitario en la zona radicular y evitar su movimiento hacia zonas no deseadas.

En esta memoria se presentan los resultados dirigidos a evaluar comparativamente el uso de dos tipos de materiales, residuos orgánicos de origen agrario (alperujo) y minerales de la arcilla modificados con cationes orgánicos (organoarcillas), como enmiendas de suelos agrícolas andaluces con el fin de incrementar su capacidad de retención para herbicidas móviles y reducir los efectos adversos provocados por una rápida lixiviación y escorrentía de los herbicidas. Aunque en la bibliografía existen algunos estudios previos sobre los efectos del alperujo en la dinámica de herbicidas en suelos agrícolas, este trabajo profundiza en los efectos de esta práctica, no sólo a través de estudios de laboratorio sino también bajo condiciones reales de campo, y aborda sus consecuencias en el transporte por escorrentía, aspecto sobre el cual existe muy poca información. Una propuesta novedosa adicional es la de evaluar organoarcillas como enmiendas para optimizar el comportamiento de los herbicidas, pues hasta ahora la mayoría de los estudios sobre organoarcillas como adsorbentes de plaguicidas se han centrado en otro tipo de aplicaciones como la depuración de aguas, el desarrollo de formulaciones de liberación lenta o la inmovilización de contaminantes en suelos contaminados.

The widespread use of pesticides in modern agricultural production has resulted in increasing levels of pesticide residues in natural ecosystems, posing a risk to the environment and human health. In Spain, the agricultural soils located in Andalusia comprise a high-risk scenario of ground and surface water contamination by pesticides, mainly because most soils have very little retention capacities as a result of their low organic matter content, and thus have little capacity for reducing pesticide transport losses. Pronounced slopes and climatic conditions, e.g. short but heavy rainfall events which are particularly common in Southern Spain, exacerbate the risk of offsite movement of pesticides by runoff and leaching processes, reducing pesticide efficacy and increasing the adverse effects to the environment. In this context, appropriate management practices are needed to minimize pesticide transport losses, such as those directed to increase the soil retention capacity in order to prolong the persistence of the pesticide in the root zone and decrease its movement to adjoining soil and water compartments.

In the present work, laboratory and field experiments were conducted to evaluate the use of two types of materials: i) the organic waste generated during the olive-oil extraction process (*alperujo*) and ii) clay minerals modified with organic cations (organoclays), as amendments to increase the retention capacity of Mediterranean (Andalusian) soils for mobile herbicides and to reduce the adverse effects caused by their rapid leaching and runoff to ground and surface waters. Although previous studies have reported the effects of *alperujo* on the fate of certain herbicides in agricultural soils, the objective of this work was to get further insight into the effects of this practice not only under controlled laboratory conditions, but also under real field conditions, particularly with regard to herbicide runoff, on which the existing information is very scarce. An additional original contribution of this work is the use of organoclays as soil amendments to optimize the behavior of pesticides in agricultural soils, given that most research previously conducted on organoclays as sorbent of pesticides was focused on other applications, such as their use as filters for water purification, supports for the design of pesticides slow release formulations, or containment barriers for pollutant immobilization in contaminated soils.



I. INTRODUCCIÓN

I.1. Plaguicidas en el Medio Ambiente: Marco contextual

La agricultura es un sector estratégico dentro del sistema productivo español, que ha de atender la demanda global de alimentos de la sociedad, asegurar la sostenibilidad económica, social y medioambiental de la actividad, y hacer frente a los nuevos desafíos del sector.

El proceso de adaptación de la actividad agraria española, consecuencia de las continuas reformas en la Política Agraria Común (PAC), ha provocado desiguales impactos sectoriales y territoriales. En principio, para el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino (MARM) fue una prioridad el mantenimiento de una Política Agraria Común sólida y moderna que se adaptara a la diversidad y necesidades del medio rural español y acompañara al sector agroalimentario en su proceso de diversificación e integración territorial con las demás actividades (MAGRAMA, 2009).

Los objetivos estratégicos de la futura PAC deben perseguir: a) preservar la seguridad alimentaria y contribuir a satisfacer la demanda mundial de alimentos que, según la FAO, se incrementará en un 70% de aquí a 2050; b) apoyar a las comunidades agrícolas para que suministren sus productos de manera sostenible, de conformidad con los compromisos adquiridos por la UE en materia de medio ambiente, calidad del agua, bienestar animal y productos fitosanitarios; c) mantener comunidades rurales viables, en las que la agricultura se convierta en creadora de empleo. Para ello, debe ser primordial un plan orientado hacia el desarrollo rural, que contribuya a la competitividad, la gestión sostenible de los recursos naturales y el desarrollo territorial equilibrado. En este sentido, el medio ambiente, el cambio climático y la innovación deben ser más que nunca los principios rectores de la política futura.

Bajo este marco el uso de plaguicidas es una de las prácticas que más han contribuido al incremento de la producción agrícola en las últimas décadas. Junto a otros factores como la adopción de variedades de cultivo mejoradas, el empleo de fertilizantes sintéticos o la optimización de los sistemas de riego, el uso de compuestos orgánicos sintéticos para el control de plagas es en la actualidad

indispensable para satisfacer la creciente demanda de alimentos de la producción mundial. Asimismo, se debe de tener en cuenta que el uso de plaguicidas facilita las prácticas del mínimo laboreo y de no laboreo, que junto con la rotación de cultivos, contribuyen directamente a la protección del medio, ya que reducen la degradación del suelo y las pérdidas por escorrentía de nutrientes y otros compuestos. En la agricultura de regadío, los herbicidas no sólo controlan las malas hierbas en los cultivos, sino también facilitan la operación de miles de kilómetros de canales de riego y drenaje (Prathapar y Bowmer, 1991).

La evolución de las ventas de productos fitosanitarios muestra un mercado relativamente estable, en comparación con otros sectores, especialmente de la industria química, con una demanda estacional siempre condicionada por la meteorología. En España, en los últimos años las cifras de negocio del sector de la protección de la plantas han oscilado entre los 550 y 650 millones de euros, con 2003 como año récord por una climatología favorable al desarrollo de plagas (Fig. I.1). Sin embargo, es necesario destacar que estos niveles de facturación se mantienen aún con una importante reducción de materias activas, reducción que se está compensando con productos de mayor valor añadido según la Asociación Empresarial para la Protección de las Plantas (AEPLA, 2011).

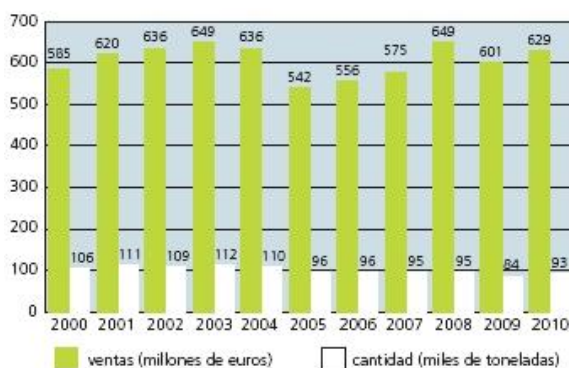


Figura I.1. Evolución de las cifras de mercado español de productos fitosanitarios 2000-2010 (Fuente: AEPLA, 2011).

El consumo de productos fertilizantes y de productos fitosanitarios, utilizados para aumentar el rendimiento en las producciones, es uno de los indicadores ambientales más representativos utilizados por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). Según se recoge en el Perfil Ambiental de España 2009 (MAGRAMA, 2009), el consumo de productos fitosanitarios por hectárea cultivada se ha incrementado progresivamente durante los últimos 15 años manteniendo valores similares en los últimos tres años (Fig. I.2).

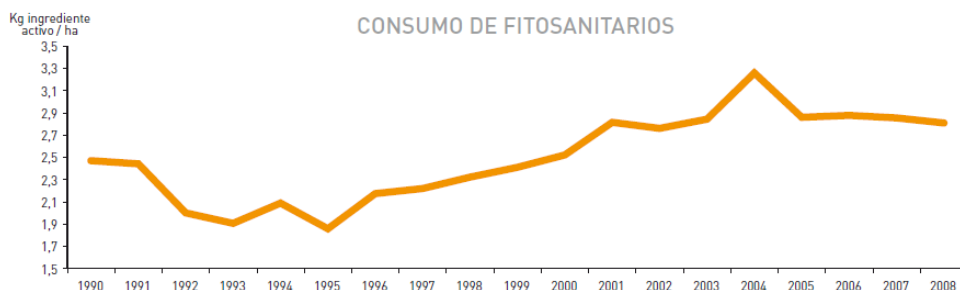


Figura I.2. Evolución en el consumo de fitosanitarios en España (Fuente: MAGRAMA, 2009).

Otro de los indicadores que se utilizan son los de eficiencia ambiental de la agricultura comparando los distintos indicadores ambientales frente al Valor Añadido Bruto (VAB). A efectos del cálculo de este indicador, se entiende que la eficiencia ambiental es positiva cuando la evolución del crecimiento económico del sector presenta una tendencia desvinculada (contraria y divergente) de las de presiones ambientales generadas sobre el medio ambiente. Así, se deriva de la Figura I.3, en la que se muestra la evolución de la eficiencia ambiental de la agricultura durante el período comprendido entre 2000 y 2008, que el consumo de fitosanitarios ha presentado un crecimiento mucho mayor que el VAB, de lo cual se deduce un comportamiento ambiental más desfavorable.

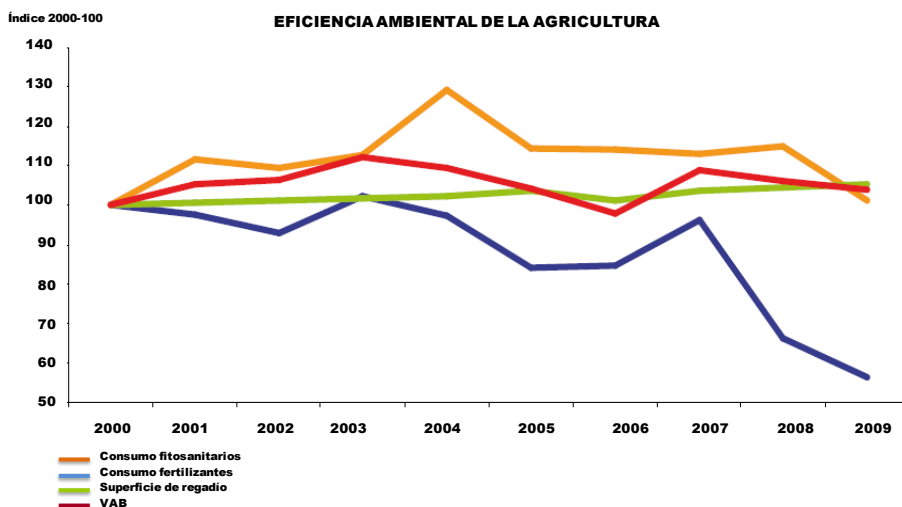


Figura I.3. Evolución de la eficiencia ambiental en la agricultura española durante el período 2000-2008 (Fuente: MAGRAMA, 2010).

Las ventajas de los plaguicidas son indiscutibles frente al control de plagas y enfermedades, pero como se ha mencionado, el uso de estos compuestos también lleva consigo serios problemas medioambientales. Los plaguicidas, al prepararse deliberadamente para ser tóxicos frente a determinados organismos, provocan alteraciones en los ecosistemas y riesgos en la salubridad de aguas y alimentos de procedencia agrícola y en la salud de los operarios dedicados a su manejo y aplicación, si no se toman las medidas adecuadas.

Las actividades agrarias generan dos tipos de fuentes de contaminación: puntual y difusa. Entre las primeras figuran las explotaciones ganaderas de tipo intensivo que generan residuos animales con elevada carga orgánica mientras que la de carácter difuso corresponde a las prácticas agrícolas de fertilización y de aplicación de fitosanitarios o plaguicidas. Los residuos de plaguicidas que se encuentran en las aguas superficiales y subterráneas aumentan continuamente como resultado de su creciente y continuado empleo en agricultura y otros campos de actividad. Aunque el comportamiento óptimo de los plaguicidas implica su presencia en el lugar y momento apropiado, una vez que llegan al suelo o la planta, estos compuestos experimentan una serie de procesos (arrastre, lixiviado,

volatilización...) que por una parte les restan eficacia y por otra originan su presencia en lugares no deseados, con los consiguientes problemas medioambientales. Dos de los efectos secundarios más adversos son el proceso de lixiviación y el de arrastre superficial o escorrentía, por los que los plaguicidas llegan a las aguas subterráneas y superficiales convirtiéndose en fuentes de contaminación difusa, que son las más difíciles de remediar. Por otra parte, cuando estas aguas son utilizadas como aguas potables, la presencia de plaguicidas en ellas tiene una repercusión económica desfavorable en los procesos de potabilización (Anselme et al., 1992), ya que según el Real Decreto 140/2003, basado en la Directiva CE sobre agua potable 80/778/CE y la nueva directiva 98/83/CE, ningún plaguicida debe sobrepasar los 0.1 µg/l y la suma total de plaguicidas no debe sobrepasar los 0.5 µg/l.

La presencia de plaguicidas en aguas superficiales y subterráneas de nuestro país es un hecho que se ha puesto de manifiesto en diversos estudios de monitorización de aguas (Picó et al., 1994; Sánchez-Camazano et al., 1995; Pérez-Ruzafa et al., 2000; Garrido et al., 2000; Carabias-Martínez et al., 2003; Hildebrandt et al., 2008; Hermosín et al., 2009). El riesgo de contaminación de acuíferos se agrava cuando el empleo de plaguicidas es continuado, como ocurre en monocultivos y cultivos arbóreos, y más aún cuando se aplican prácticas agrícolas, como por ejemplo la cultura de mínimo laboreo, que impone un incremento en la utilización de productos fitosanitarios.

La Unión Europea (UE), en su Estrategia Temática sobre la utilización sostenible de los plaguicidas, aplica un conjunto de medidas encaminadas a reducir los riesgos para el medio ambiente y la salud humana vinculados a la utilización de los plaguicidas y, de manera más general, a lograr un empleo más sostenible de estos compuestos a través de una reducción global sensible de los riesgos y la utilización, sin pérdida de rendimiento para los usuarios profesionales. La actual Directiva 2009/128/CE, sobre el *Uso Sostenible de Plaguicidas*, aprobada en 2010 y en actual proceso de trasposición, establece que a partir de 2014 el sistema agrario europeo deberá producir únicamente bajo criterio de gestión integrada de plagas, en línea con los planteamientos sociales actuales, asegurando una agricultura sostenible, respondiendo a la demanda de productos frescos y velando por las

exigencias ecológicas. Uno de los puntos a destacar dentro de esta Directiva es su énfasis en las medidas preventivas para velar por la protección del medio acuático y del suministro de agua potable derivada de los efectos del uso de plaguicidas, destacando aquellas vías (filtración o lixiviación, escorrentía) que generan mayor riesgo de contaminación, así como el de intensificar la vigilancia, investigación sobre plaguicidas y la formación y la información de los usuarios, y medidas específicas de utilización de estas sustancias.

En este contexto el presente trabajo de Tesis Doctoral se ha enfocado a evaluar la posibilidad de utilizar diferentes adsorbentes como potencial vía para reducir la movilidad y, por consiguiente, el impacto ambiental asociado a las pérdidas por transporte de herbicidas en suelos agrícolas. Queda patente que para un uso eficiente de los plaguicidas que conlleve un mínimo riesgo de impacto ambiental es necesario tener un conocimiento profundo de los procesos que afectan a estos compuestos en el ambiente. De este modo, se podrá incidir en ellos para intentar conciliar los criterios o al menos avanzar hacia un compromiso de máxima eficacia y mínimo impacto, así como para establecer las estrategias de prevención y remediación más adecuadas.

I.2. Problemática por el uso de plaguicidas: Andalucía como zona de potencial de riesgo de contaminación

La agricultura ha sido para Andalucía una de sus principales fuentes de riqueza, jugando un papel prioritario en las políticas de desarrollo para continuar siendo una de las mayores fuentes generadoras de riqueza y empleo. La importancia del sector recae en la extensión de su superficie que abarca el 53.3% de la Comunidad Autónoma según fuentes de la Consejería de Agricultura y Pesca (CAP, 2009), donde casi el 83% de la superficie andaluza de cultivo la acaparan el olivar (48%), cereales (25%) y los cultivos industriales (10%) (Fig. I.4).

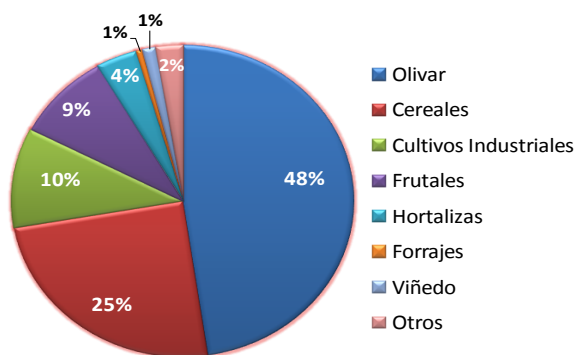


Figura I.4. Superficie de cultivo en Andalucía. Media de los años 2005-2008. Informe del sector agrario (CAP, 2009a).

Como se ha apuntado anteriormente, el uso de plaguicidas como medio para incrementar la producción agrícola genera problemas de contaminación, estando las aguas superficiales y subterráneas entre los compartimentos más susceptibles. Un escenario de alto riesgo lo constituye Andalucía donde se han producido episodios esporádicos de contaminación por herbicidas, que son los fitosanitarios más consumidos con un 67% del total (Fig. I.5), en aguas embalsadas destinadas a la producción de agua potable, ligados a situaciones meteorológicas concretas, por los que se declararon no aptas las aguas de consumo distribuidas a

un 0.001% de la población, como recoge el Plan Andaluz de Salud Ambiental 2008-2012 (OSMAN, 2012).

En diciembre de 2002, la detección de los herbicidas simazina y terbutilazina en aguas del pantano del Rumblar afectó al abastecimiento de agua potable de 84.000 vecinos de la comarca de Andújar (Jaén) y dos años más tarde, también en Jaén, 30.000 habitantes de la comarca de El Condado sufrieron las mismas consecuencias por la contaminación del pantano del Dañador. En julio de 2005, fueron 165.000 vecinos de la provincia de Córdoba los afectados por la presencia de los herbicidas terbutilazina y diurón en el pantano de Iznájar y en 2007, el bajo nivel de los pantanos hizo aflorar nuevos casos de contaminación por herbicidas en embalses de la cuenca del Guadalquivir.

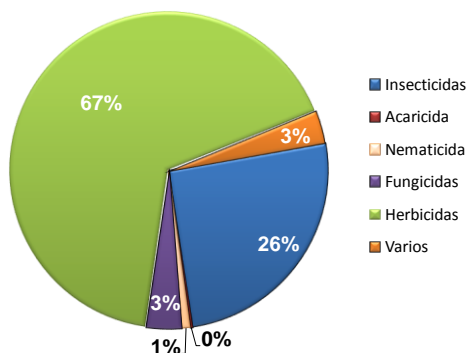


Figura I.5. Consumo de fitosanitarios en Andalucía en 2009 (CAP, 2009a).

Por tanto, durante la campaña 2007/2008, dada la problemática surgida con los herbicidas en el olivar y la posibilidad de contaminación de las aguas de los embalses de abastecimientos, se hizo necesario continuar con el Plan Específico abordado en el año 2004 donde se integraron las inspecciones en los establecimientos, la vigilancia del uso de herbicidas en las Comarcas olivareras y en las cuencas de los embalses de aguas para consumo humano y la vigilancia de residuos de herbicidas en aceitunas. Se analizaron 299 muestras de aceitunas y ninguna superó los Límites Máximo de Residuos (LMRs) establecidos de alguna materia activa (CAP, 2008).

Toda esta problemática viene derivada de la escasa capacidad de retención de los suelos andaluces a los que hay que aplicar los plaguicidas y que constituye uno de los factores que más contribuyen a acentuar los procesos de transporte de los plaguicidas, ya que hace que puedan producirse grandes pérdidas por lixiviación (movimiento del plaguicida a través del perfil de suelo) y/o escorrentía (arrastre superficial), especialmente si se producen episodios de abundantes lluvias poco después de la aplicación del producto (Cox et al., 2000a). Esta situación es muy habitual en cultivos andaluces, donde suelos pobres en materia orgánica (<2%) y, por tanto, con bajas capacidades de retención, se ven sometidos a períodos de breves e intensas lluvias que hacen que se produzcan unas escorrentías que pueden transportar importantes cantidades de herbicidas, especialmente si las lluvias se producen en un período corto de tiempo tras la aplicación del producto fitosanitario (Saavedra y Pastor, 2002; Albarrán, 2004). El clima mediterráneo se caracteriza por una estación fría y húmeda (otoño e invierno), en la cual se producen el 80% de las precipitaciones, y por una estación cálida y seca (primavera y verano), dándose períodos de breves pero intensas lluvias que pueden provocar grandes pérdidas de suelos y de los agroquímicos aplicados a los mismos (Ramos y Porta, 1994).

Si tomamos como ejemplo la superficie de olivar, por ser uno de los cultivos con más extensión en Andalucía (Fig. I.4), cabe destacar que el 74 % de las explotaciones olivareras se encuentran en pendientes mayores al 7% y que un 6% de las mismas presenta pendientes superiores al 30% (Tabla I.1), por lo que los procesos de escorrentía se ven fuertemente agravados, lo que contribuyó a dichos problemas de contaminación en los embalses.

Tabla I.1. Distribución de explotaciones olivareras en Andalucía por pendientes (Junta de Andalucía, 2003)

Pendiente (%)	Superficie (ha)
< 7	384.570 (26%)
7-15	566.775 (38%)
15-30	439.698 (30%)
> 30	87.853 (6%)

Estas pérdidas por escorrentía, además, producen una erosión del suelo que agudizan los procesos de arrastre. Anualmente, millones de toneladas de suelo son arrastradas por las aguas de escorrentía, lo que reduce paulatinamente la fertilidad del suelo (Ramos et al., 2008). Según recoge el Anuario de 2009 de la Consejería de Agricultura y Pesca (CAP, 2009b), en Andalucía se ha producido una pérdida paulatina de suelo (Tabla I.2), lo cual incrementa aún más los procesos de transporte de plaguicidas.

Tabla I.2. Distribución de la superficie de suelo andaluz en función de las pérdidas medias por erosión en el período 1992-2009 (CAP, 2011).

Pérdida de suelo	Superficie media perdida 1992-2009 (%)
Bajas^a	67.1
Moderadas	20.9
Altas	6.5
Muy altas	5.5

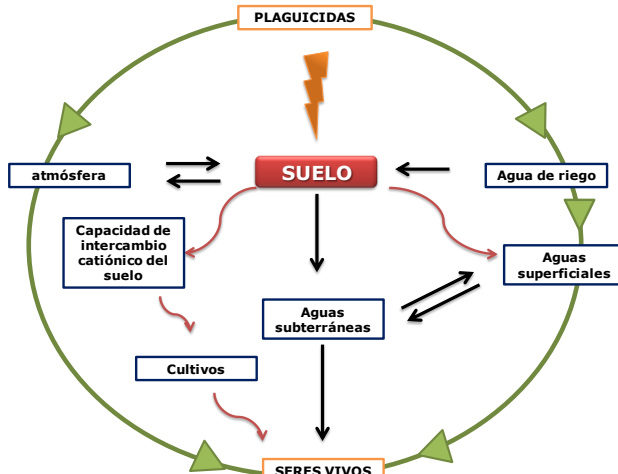
^aSe considera que la pérdida de suelo es baja cuando se pierden entre 0-12 t/ha/año; moderada: 12-50; alta: 50-100 t/ha/año; muy alta: >100 t/ha/año

Para minimizar los efectos negativos de los plaguicidas, se deben tomar las debidas precauciones y regular su uso mediante normativas que deben ser conocidas por sus usuarios. Por ello, antes de introducir un nuevo producto en el mercado, las compañías dedicadas al desarrollo de plaguicidas realizan un exhaustivo estudio, no sólo de sus propiedades físicas, químicas y toxicológicas, sino también de su eficacia en el campo, de su persistencia en el medio ambiente y de los posibles productos de degradación. Estos estudios pueden durar varios años y tener un coste muy elevado.

Los plaguicidas ideales serían aquellos que permitieran controlar y destruir con rapidez un gran número de plagas, malas hierbas y enfermedades, sin perjudicar la flora y fauna beneficiosa, que presentasen una corta persistencia en el suelo o sobre el cultivo tratado y permitiesen recoger una cosecha sin residuos ni efectos nocivos para el consumidor a los pocos días de su utilización.

Por tanto, una forma de disminuir las pérdidas de los plaguicidas sería incidir sobre el proceso de adsorción de éstos por parte del suelo, por ejemplo mediante la aplicación de adsorbentes, a modo de enmienda, con el fin de mantener o retener los plaguicidas en el horizonte más superficial y reducir el transporte desde su lugar de aplicación.

De todo esto podemos resumir que los plaguicidas son productos que junto a una gran utilidad económica presentan riesgos de importancia variable y, en consecuencia, resulta imprescindible la comprobación de que su eficacia sea superior a unos mínimos aceptables y que los riesgos derivados de su manipulación y aplicación sean controlables. Para ello, se continúa con la realización de informes reglamentarios elaborados por la Comunidad Autónoma Andaluza mediante los denominados Programas de Vigilancia de la Comercialización y del Uso de Productos Fitosanitarios (OSMAM, 2012).



procesos de entrada o inputs de los plaguicidas (Fig. I.7), teniendo en cuenta que el movimiento de plaguicidas transcurre principalmente en medio acuoso (Cheng y Koskinen, 1986).

Previo a la entrada de agroquímicos al suelo, como decimos, confluyen una serie de factores de entrada (inputs) que inciden en el sistema suelo-agua y se relacionan entre sí, marcando posteriormente el destino de los plaguicidas en el suelo (output) a través de diversos procesos. Estos factores determinantes pueden ser: propiedades físico-químicas del compuesto en cuestión, condiciones climáticas, propiedades del sistema suelo-agua e influencia de los seres vivos (Fig. I.7). La dinámica de plaguicidas viene marcada por distintos procesos simultáneos, una vez que el plaguicida ha alcanzado el suelo, donde la **adsorción** del plaguicida es el proceso clave que marcará su disponibilidad en toda la dinámica.

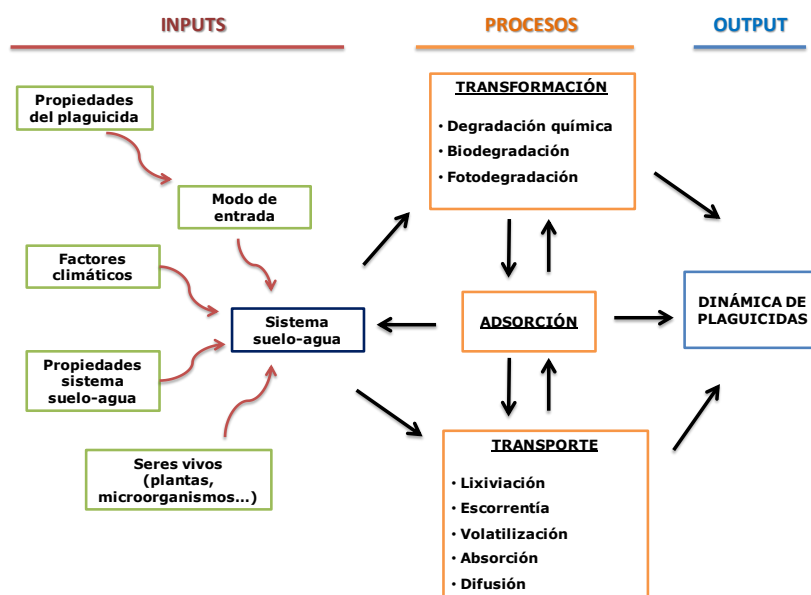


Figura I.7. Interacciones entre los factores y procesos que afectan a la dinámica de plaguicidas en el suelo (adaptado de Cheng y Koskinen, 1986).

Los procesos, marcados por la adsorción de los plaguicidas, se pueden clasificar en dos grandes grupos: procesos de **transporte** y procesos de **transformación** (Fig. I.8).

Los procesos de transporte son aquellos en los que la naturaleza química del plaguicida no se ve afectada e implican mecanismos donde la adsorción es el más fundamental y determinante de todos ellos, puesto que determina la cantidad de plaguicida disponible en disolución (Bailey y White, 1970; Harmarker y Thomson, 1972; Cornejo y Jamet, 2000). Así, por ejemplo, la volatilización, lixiviación y biodisponibilidad generalmente disminuyen con la adsorción (Day et al., 1968; Ferreira et al., 2002), mientras que algunos procesos de degradación química o el transporte por partículas en suspensión pueden verse favorecidos (Amstrong et al., 1967; McCarthy y Zachara, 1989).

Por el contrario, aquellos procesos que implican cambios en la estructura del plaguicida son denominados como procesos de transformación, bien sean de degradación química, biodegradación o fotodegradación. En los procesos de transformación, el plaguicida se modifica o degrada en otros compuestos que pueden ser de igual, mayor o menor toxicidad.

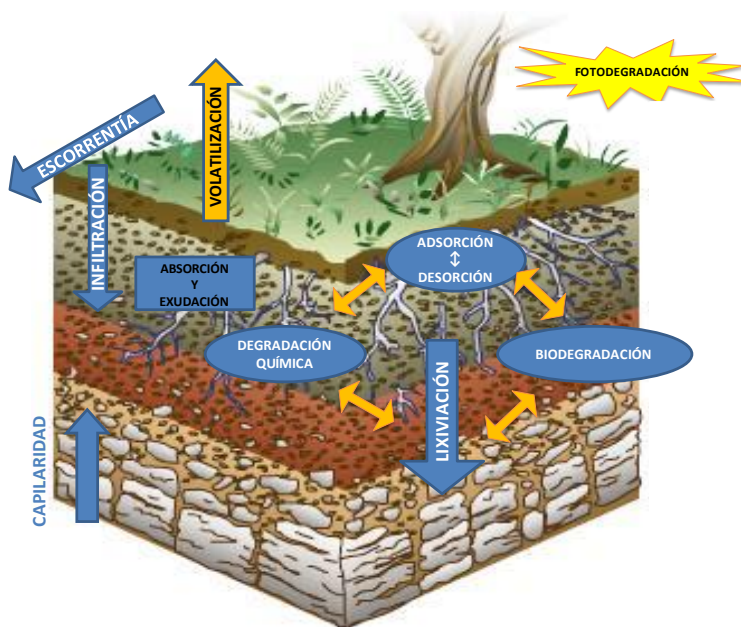


Fig. 1.8. Procesos que determinan la dinámica de los plaguicidas en el suelo.

Muchos de los procesos implicados en la dinámica de los plaguicidas en el suelo suponen una pérdida de eficacia y la presencia final de contaminantes en lugares no deseados y fuera del alcance de sus objetivos. Por tanto, un conocimiento profundo de todos estos procesos es fundamental para conseguir el comportamiento deseado del plaguicida, es decir, aquel que lleve a una máxima eficacia del producto unida a un mínimo impacto ambiental. Uno de los objetivos de esta Tesis Doctoral ha sido el de proponer materiales a utilizar como enmiendas de suelos para controlar el proceso de adsorción de plaguicidas, como proceso clave en la optimización del comportamiento de plaguicidas.

I.3.1. Procesos de transporte

I.3.1.1. Procesos de adsorción-desorción

El proceso de adsorción se define como el paso de un soluto desde una fase líquida o gaseosa a la superficie de una fase sólida sin producir cambios en esta última (Osgerby, 1970). Los procesos de adsorción ocurren con mayor frecuencia entre la disolución del suelo y la fase sólida del suelo, ya que ésta está siempre rodeada de una fina capa de agua y sólo en casos de extrema aridez se produciría la adsorción sólido-gas (Pignatello, 1989). El proceso de adsorción se debe a la atracción entre la superficie del adsorbente (macroporos y microporos del suelo) y las moléculas o iones del adsorbato (plaguicida) (Calvet, 1989). Los procesos de adsorción vienen determinados en gran parte por la cantidad de superficie de contacto del sólido, que es inversamente proporcional al tamaño. Son por tanto las fracciones más finas del suelo, tanto orgánicas como inorgánicas, las más importantes en la adsorción de plaguicidas (Bailey y White, 1970).

La desorción es el proceso inverso a la adsorción y se caracteriza porque las sustancias adsorbidas a la fase sólida del suelo vuelven a la disolución del suelo o a su fase gaseosa. En caso de desorción total de las moléculas adsorbidas se habla de adsorción reversible (Wauchope y Myers, 1985; Monkiedje y Spiteller, 2002), pero si las moléculas adsorbidas sólo se desorben parcialmente se habla

entonces de adsorción irreversible (Cox et al., 1995; Celis y Koskinen, 1999; Fogg et al., 2003). La irreversibilidad o histéresis es un fenómeno importante ya que en gran medida determina la biodisponibilidad del plaguicida en el suelo. Cuando el plaguicida se encuentra adsorbido a la fase sólida del suelo está menos disponible para su transporte o biodegradación, mientras que la desorción provoca el efecto contrario.

Las fuerzas de atracción responsables de la adsorción pueden ser de diferentes tipos y se clasifican como mecanismos de adsorción. En función de las propiedades de los solutos y de la superficie adsorbente son posibles varios tipos de mecanismos que puede ocurrir simultáneamente. Cornejo y Hermosín (1996) distinguen entre mecanismos favorecidos por cambios de entalpía y mecanismos cuya principal fuerza impulsora es el aumento de la entropía del sistema, tal y como recoge la Figura I.9.



Figura I.9. Mecanismos de adsorción de plaguicidas en el suelo.

I.3.1.1.1. Medida de la adsorción

La medida y caracterización de la adsorción permite investigar los mecanismos de este tipo de interacción y obtener resultados comparativos, tanto entre adsorbatos (plaguicidas) como entre adsorbentes (suelos) diferentes y en diversas condiciones (Beck et al., 1993). La adsorción al suelo se caracteriza normalmente por una constante de reparto K , con el subíndice d para indicar distribución. Se define como la proporción entre la concentración de moléculas adsorbidas y la concentración de moléculas en disolución en el equilibrio:

$$C_e \rightleftharpoons C_s$$

donde, C_e es la concentración de soluto en disolución en equilibrio con el suelo y C_s es la cantidad adsorbida por unidad de masa del sólido.

Frecuentemente se asume que C_s depende linealmente de C_e y se define un coeficiente de distribución, K_d , como:

$$K_d = \frac{C_s}{C_e} \quad \text{Ec I. 1}$$

La ecuación anterior implica una relación directamente proporcional entre la concentración de adsorbato en el disolvente o fase líquida y la concentración en el sólido o fase sólida. Esta forma lineal generalmente describe correctamente el equilibrio a bajas concentraciones de adsorbato en la fase líquida. El coeficiente K_d puede utilizarse para comparar el grado de adsorción de diferentes compuestos en un mismo suelo o de un mismo compuesto en diferentes suelos en unas condiciones experimentales determinadas y a la concentración inicial de compuesto en cuestión. Por lo general, valores elevados de K_d indican que el plaguicida presenta una gran afinidad por el adsorbente y se suelen corresponder con plaguicidas hidrofóbicos e insolubles en agua (Wauchope et al., 2002).

No obstante, son habituales los casos en los que la relación entre la cantidad adsorbida y la cantidad en disolución no es lineal, por lo que el valor de K_d depende de la concentración a la que se evalúe. En estos casos, una caracterización adecuada de la adsorción requiere la obtención de isothermas de adsorción.

Las isothermas de adsorción se obtienen experimentalmente en el laboratorio haciendo interaccionar cantidades conocidas de adsorbente con disoluciones con diferentes concentraciones iniciales del plaguicida a una temperatura determinada. Las isothermas de adsorción resultantes representan la cantidad de plaguicida adsorbido por unidad de masa del adsorbente (C_s) frente a su concentración en la disolución de equilibrio (C_e). Según Giles et al. (1960), las isothermas de adsorción de

compuestos orgánicos se pueden clasificar en cuatro clases principales dependiendo de la pendiente del tramo inicial de la curva. Según estos autores, la forma de la isoterma está relacionada con el mecanismo de adsorción, la naturaleza de la molécula a adsorber y la superficie adsorbente. En la Figura I.10 se muestran las cuatro clases principales de isotermas de adsorción:

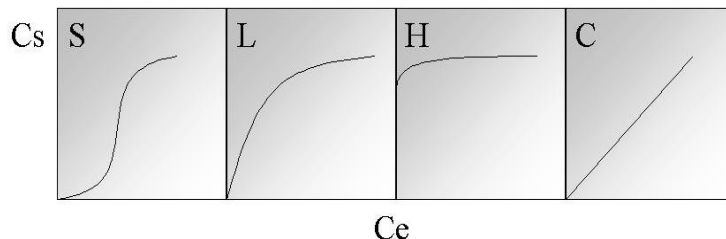


Figura I.10. Tipos de isotermas de adsorción según la clasificación de Giles et al. (1960).

- Isotermas tipo S: la curvatura inicial de la isoterma indica que la adsorción está facilitada a elevadas concentraciones de soluto. Suelen observarse cuando se da una interacción específica entre el soluto y el adsorbente, cuando existe una moderada atracción entre las moléculas de soluto adsorbidas o cuando las moléculas de soluto y las de disolvente compiten por los sitios de adsorción del adsorbente.

- Isotermas tipo L: la curvatura inicial de la isoterma indica que a medida que transcurre la adsorción aumenta la dificultad para que las moléculas de soluto encuentren sitios de adsorción vacantes. No suele haber fenómenos de competencia entre el soluto y el disolvente por los sitios de adsorción, por lo que a menudo se habla de adsorción específica.

- Isotermas tipo H: se consideran un caso especial de las isotermas tipo L en las que el soluto tiene tan alta afinidad por el adsorbente que para disoluciones diluidas la adsorción es total. Es poco habitual y suele darse para adsorbatos de elevado peso molecular como micelas iónicas o especies poliméricas.

○ Isotermas tipo C o de reparto constante: se caracterizan por presentar una relación lineal entre la cantidad de soluto adsorbido y la concentración del mismo en la disolución de equilibrio. Debido a que es el tipo de curva que se obtiene para el reparto de un soluto entre dos disolventes inmiscibles, algunos autores utilizan el término “partición” o “reparto” del soluto entre el adsorbente y la disolución (Rutherford et al., 1992).

Ecuaciones de adsorción

Para representar numéricamente las isotermas de adsorción de los plaguicidas, éstas suelen ajustarse a ecuaciones matemáticas o modelos de adsorción, entre las cuales la ecuación de Freundlich es una de las más utilizadas.

La ecuación de Freundlich es una ecuación empírica que relaciona la cantidad de soluto adsorbido con la concentración en equilibrio existente en disolución. Se puede expresar como:

$$C_s = K_f C_e^{N_f} \quad \text{Ec. I. 2}$$

o como su expresión logarítmica:

$$\log C_s = \log K_f + N_f \log C_e \quad \text{Ec. I. 3}$$

En estas expresiones C_s es la cantidad de soluto adsorbida a la concentración de equilibrio C_e , mientras que K_f y N_f son constantes características que pueden obtenerse del ajuste lineal de los datos de $\log C_s$ vs $\log C_e$.

El valor absoluto de K_f coincide con la cantidad de soluto adsorbido para una concentración de equilibrio $C_e=1$, por lo que es considerado como una medida de la capacidad de adsorción del sólido para el soluto en cuestión. El parámetro N_f coincide con la pendiente de la representación lineal de $\log C_s$ vs $\log C_e$ y se

considera una medida de la intensidad de la adsorción. Los valores de K_f pueden usarse para comparar la capacidad de adsorción de diferentes sistemas adsorbente-adsorbato siempre que las condiciones experimentales hayan sido las mismas (Bowman y Sans, 1985) y los valores de N_f sean similares (Hance, 1967), pero es importante que el valor de $C_e = 1$ esté dentro o cerca del intervalo de concentraciones experimentales (Hermosín y Cornejo, 1987).

Los valores de N_f están relacionados con la forma de la isoterma de adsorción:

- Tipo C cuando $N_f = 1$
- Tipo L cuando $N_f < 1$
- Tipo S cuando $N_f > 1$

Desorción

La desorción es el proceso contrario a la adsorción, por el que las moléculas adsorbidas vuelven a la disolución del suelo como consecuencia de la disipación del plaguicida por degradación o por procesos de transporte. Este proceso de liberación (desorción) del compuesto adsorbido desde las partículas de suelo es fundamental para predecir la distribución de los plaguicidas en el suelo, llegando a ser particularmente importante para predecir la dinámica y la movilidad de éstos con el objetivo de desarrollar estrategias para evitar la contaminación.

El estudio de la desorción suele llevarse a cabo mediante diluciones sucesivas, por las que, tras la medida de la adsorción, se sustituye parte de la disolución de equilibrio por una disolución libre de plaguicida permitiendo que se reestablezca el equilibrio. Cuando la isoterma de desorción del plaguicida no coincide con la de su adsorción se dice que existe histéresis. El grado de reversibilidad del proceso de adsorción puede expresarse por el coeficiente de histéresis, H , dado como el cociente entre los valores de N_f para la desorción y para la adsorción (O'Connor et al., 1980; Barriuso et al., 1994).

$$H = \frac{N_{f-des}}{N_{f-ads}} \quad \text{Ec. I.4}$$

El coeficiente H puede oscilar entre 0, para procesos completamente irreversibles, y 1, cuando la isoterma de desorción sigue el mismo camino que el de la adsorción. La existencia de histéresis puede ser atribuible a artefactos experimentales como: no haberse alcanzado las condiciones de equilibrio durante la adsorción, eliminación de partículas de suelo durante la desorción, formación de precipitados o pérdidas de plaguicida por volatilización, degradación o ambos, así como a cambios en la composición del sistema producidos durante la dilución de la disolución de equilibrio tras la adsorción (Koskinen y Harper, 1990; Gu, 1994). Sin embargo, en otras ocasiones la existencia de histéresis puede ser generada bien por la deformación de los poros del soluto, lo que origina que el camino de la adsorción difiera del de la desorción (Washington et al., 2003), o bien por la formación de residuos irreversiblemente adsorbidos a las partículas de suelo, donde la desorción es cinéticamente tan lenta que hace que experimentalmente no sea posible observarla (Karickhoff, 1980; Celis y Koskinen, 1999a). Así, por ejemplo, Celis y Koskinen (1999) cuantificaron, mediante un método basado en intercambio isotópico, la fracción del plaguicida adsorbido de forma irreversible en un experimento de adsorción, sugiriendo un incremento en el componente irreversible de la adsorción a bajas concentraciones de plaguicida y mayores tiempos de equilibrio. Este método podría, por tanto, tener utilidad para ser incorporado en modelos predictivos que tengan en cuenta la irreversibilidad.

I.3.1.1.2. Factores que influyen en la adsorción-desorción

Algunos de los factores más importantes que influyen en el proceso de adsorción-desorción de los plaguicidas en el suelo son los siguientes:

1) Naturaleza química del plaguicida

Un factor fundamental en la adsorción de los plaguicidas en el suelo es la propia naturaleza química de la molécula del plaguicida. Las características físico-químicas del plaguicida pueden indicarnos su comportamiento en la adsorción. Entre las características más determinantes destacan la estructura, carga y tamaño molecular, además de su solubilidad en agua. Con respecto a la *estructura molecular*, Gramatica y Di Guardo (2002) hacen una aproximación que permite una rápida pre-determinación y monitorización de la distribución medioambiental de los plaguicidas conociendo únicamente la estructura molecular de los mismos. Según Bailey y White (1970), los factores estructurales que determinan el carácter químico de los plaguicidas y, por tanto, su influencia en la adsorción son: a) la naturaleza de los grupos funcionales del compuesto orgánico, b) la posición de los grupos sustituyentes respecto al grupo funcional y c) la presencia y la magnitud de insaturaciones en la molécula, que puede afectar al balance hidrofílico-hidrofóbico.

La carga molecular del compuesto orgánico y su distribución son factores a tener muy en cuenta en el proceso de adsorción. Los compuestos que existen en disolución como cationes son rápidamente atraídos por las superficies cargadas negativamente de los minerales de la arcilla y sustancias húmicas, al contrario de lo que ocurre con los compuestos aniónicos, que son repelidos por tales superficies y atraídos por las superficies cargadas positivamente de los óxidos metálicos. En ambos casos, pueden establecerse enlaces iónicos y la adsorción será proporcional a la densidad de carga y dependerá del pH del suelo (Weber, 1982; Che et al., 1992; Weber y Swain, 1993). En otros casos, la carga puede ser débil, produciéndose entonces una simple polaridad de la molécula y la interacción con la superficie adsorbente puede darse entre dipolos inducidos o permanentes. En disolución acuosa, los compuestos de baja polaridad quedan retenidos preferentemente por la materia orgánica mediante interacciones hidrofóbicas, ya que las moléculas de agua compiten fuertemente por las superficies polares.

El tamaño molecular del plaguicida y su solubilidad son propiedades muy relacionadas entre sí, influyendo ambas en la magnitud del proceso de adsorción.

Así, un mayor tamaño molecular disminuye la solubilidad en agua, afectando al grado de adsorción de manera variable, ya que la relación entre la solubilidad de un plaguicida y su grado de adsorción no está muy clara (Nemeth- Konda et al., 2002). Según Chiou y Kile (1994) existe una relación inversa entre la solubilidad en agua de un compuesto orgánico y su adsorción a la materia orgánica del suelo, pero esta relación variará considerablemente según la polaridad del compuesto. En el caso de que se considere la adsorción por los componentes minerales, generalmente más abundantes, esta relación normalmente es la contraria; cuanto más polar y más soluble sea el plaguicida más se adsorberá. Por otra parte, un mayor tamaño de la molécula orgánica puede, por un lado, impedir su acceso a sitios de adsorción en el interior de microporos de óxidos metálicos, minerales de la arcilla y otros componentes de los suelos, pero, por otro lado, puede incrementar las fuerzas de van der Waals de dispersión que suelen ser proporcionales al área de contacto.

2) Composición coloidal del suelo

De los componentes del suelo, los minerales de la arcilla, los óxidos metálicos y la materia orgánica (componentes coloidales) aportan gran parte de la superficie involucrada en los procesos de adsorción. La importancia de cada uno de estos componentes depende en gran medida de las características de carga del compuesto a adsorber. Los componentes coloidales del suelo, entendidos como aquellos con un tamaño de partícula inferior a 2 μm , son por su elevada superficie específica y reactividad superficial los principales responsables de las interacciones que tienen lugar entre la fase sólida del suelo y solutos como los plaguicidas. Los componentes coloidales pueden ser orgánicos o inorgánicos.

a) Componentes orgánicos

En los últimos años, dada la importancia de las propiedades adsorbentes y la complejidad de los mecanismos de interacción entre la materia orgánica natural y los compuestos orgánicos, ha habido un crecimiento exponencial de las publicaciones que inciden en esta temática según recoge la Web of Science (Pignatello, 2012).

A grandes rasgos, los componentes orgánicos de la fracción coloidal del suelo pueden dividirse en dos grupos: sustancias no húmicas y sustancias húmicas. Las sustancias no húmicas están formadas por glúcidos, proteínas, lípidos, ácidos orgánicos y otros compuestos de bajo peso molecular procedentes de restos animales y vegetales, que son atacados o degradados fácilmente por los microorganismos (Khan, 1980). Las sustancias húmicas se forman a partir de las no húmicas a través de procesos de biodegradación y de síntesis. Son más estables y se caracterizan por tener una estructura química compleja y amorfa, carácter ácido, color oscuro y elevado peso molecular (Aiken et al., 1985). Las sustancias húmicas se dividen en: a) ácidos fúlvicos: solubles en medios ácidos y alcalinos; b) ácidos húmicos: solubles en medio alcalino e insolubles en medio ácido y c) huminas: insolubles en ambos (Schnitzer y Khan, 1972) (Fig. I.11). Estos tres grupos se diferencian en el peso molecular y en el contenido en grupos funcionales.

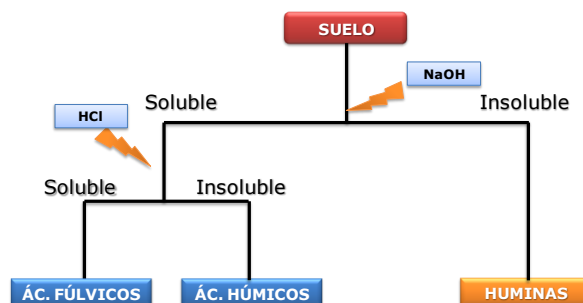


Figura I.11. Extracción de la fracción orgánica del suelo

Los coloides orgánicos son en gran medida los responsables de la adsorción de sustancias hidrofóbicas sin cargas, de manera que existe una correlación entre su adsorción y la cantidad de materia orgánica del suelo. Por ello, la adsorción de compuestos orgánicos no polares a suelos y sedimentos depende en gran medida, del contenido en carbono orgánico (Chiou, 2002; Boyd et al., 2011). Tradicionalmente, se había asumido que la materia orgánica es el principal adsorbente de compuestos orgánicos como consecuencia del simple reparto de éstos entre la fase orgánica y acuosa, es la denominada *teoría de partición* que da lugar a tipos de adsorción lineal (Chiou, 1979; Karickhoff, 1979). No obstante, las

investigaciones de las últimas décadas resaltan la heterogeneidad de la materia orgánica, que marca su rol como adsorbente de compuestos orgánicos. Esta heterogeneidad de la materia orgánica puede generar selectividad en la adsorción como consecuencia de propiedades tales como aromaticidad, polaridad, estructura o configuración y abundancia de ciertos grupos funcionales (Celis et al., 2006; Pignatello, 2012).

En este sentido, como causa de la selectividad en la adsorción es importante considerar que el estado físico de la materia orgánica comparte algunas de las propiedades de los polímeros naturales o sintéticos. Lo más relevante es considerar que la materia orgánica puede presentar dos estados o dominios: “*glassy*” o rígido y “*rubbery*” o elástico, y el que predomine uno u otro dependerá fundamentalmente de la temperatura. Estos dominios tienen que entenderse a escala nanométrica para tener un concepto a nivel molecular de lo que ocurre y cómo interaccionan las moléculas del compuesto orgánico. En el primer caso (*glassy*) la materia orgánica condensa formando huecos a escala nanométrica que pueden incluso estar interconectados entre sí. Éstos han de preexistir para que la molécula se adsorba, lo que ocurre por interacciones específicas (soluto-materia orgánica) o simplemente estos huecos aumentan la superficie específica del material carbonáceo (Sheng et al., 2001). En el segundo caso (*rubbery*) donde las cavidades se originan en pleno dominio de del soluto dando lugar principalmente a adsorciones más reversibles que en “*glassy*” (Pignatello, 2012). La Figura I.12 describe estos dos estados:

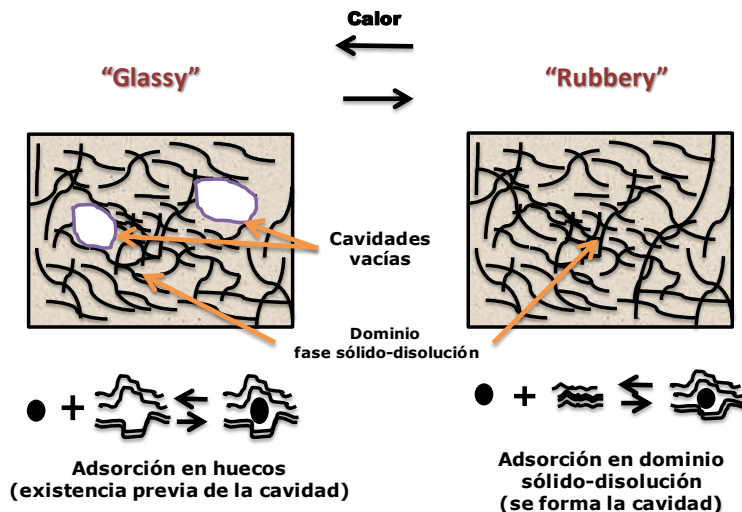


Figura I.12. Representación esquemática de los estados "glassy" y "rubbery" (arriba) y representación de la adsorción en fase sólido-disolución (abajo) (adaptado de Pignatello, 2012).

Estas estructuras físicas de la materia orgánica natural juegan un papel muy importante en la selectividad, cinética y reversibilidad de la adsorción.

b) Componentes inorgánicos

La fracción coloidal inorgánica del suelo está compuesta en su mayoría por filosilicatos y por óxidos, hidróxidos y oxihidróxidos metálicos, fundamentalmente de Fe, Al y Si. Tradicionalmente, el término "arcilla" se ha usado para referirse al material inorgánico de tamaño menor de 2 μm , mientras que "mineral de la arcilla" se ha usado para referirse a un tipo específico de minerales que se encuentran en la fracción de tamaño "arcilla" (< 2 μm) de los suelos (Moore y Reynolds, 1987). Estas definiciones han sido objeto de algunas matizaciones, aunque manteniendo estos conceptos fundamentales (Guggenheim y Martin, 1995).

Los *filosilicatos* son silicatos laminares cuya estructura se puede derivar de la unión de unidades tetraédricas Si-O y unidades octaédricas Al-(O, OH) ó Mg-(O, OH). Capas bidimensionales de tetraedros condensan con capas bidimensionales de octaedros dando lugar a láminas tridimensionales cuyo apilamiento origina la

estructura global del mineral. Una descripción más detallada del concepto, características estructurales y clasificación de los minerales se aporta en el apartado I.4.1.1. Los minerales de la arcilla se caracterizan por su elevada superficie específica. La montmorillonita y vermiculita ($880 \text{ m}^2/\text{g}$) tienen superficies internas accesibles al agua, electrolitos y algunos compuestos orgánicos como los plaguicidas.

La estructura de los *óxidos metálicos* consiste en un empaquetamiento cúbico ó hexagonal compacto de aniones O^{2-} y/o OH^- con los cationes metálicos (Fe^{3+} , Al^{3+} , Mn^{4+} , Mn^{3+}) ocupando posiciones octaédricas. Los diferentes óxidos metálicos se diferencian en la disposición de las unidades octaédricas y en el grado en el que éstas comparten vértices (un O compartido), aristas (2 O compartidos) o caras (3 O compartidos).

Los óxidos e hidróxidos metálicos se caracterizan por tener una alta superficie específica, por lo que son buenos adsorbentes de compuestos orgánicos, fundamentalmente aniónicos (Hingston et al., 1972; Filius et al., 1997; Celis et al., 1999a). Una característica importante de los óxidos metálicos es la variabilidad de su carga superficial en función del pH del medio (Hingston et al., 1972).

Teniendo en cuenta las características estructurales de los tres componentes mayoritarios del suelo (filosilicatos, óxidos y sustancias húmicas) podemos decir que, individualmente, estos componentes presentan unas propiedades adsorbentes que pueden ser modificadas cuando en el suelo se produce la interacción entre ellos (Celis et al., 1999a,b; Illes et al., 2004).

c) Características de la disolución del suelo

Numerosos trabajos han puesto de manifiesto la importancia del pH en los procesos de adsorción (Weber, 1982; Hermosín et al., 1987; Sarmah et al., 1998; Li et al., 2001; Cabrera et al., 2012). El pH de la disolución del suelo determina la carga superficial de los componentes con carga variable del suelo y la ionización de los plaguicidas con propiedades ácidas o básicas.

La variación de la carga superficial de los coloides del suelo influye directamente en su capacidad de interaccionar con especies iónicas. Así, por ejemplo, la adsorción de compuestos aniónicos a óxidos metálicos aumenta al disminuir el pH como consecuencia del aumento del número de centros positivos en la superficie del óxido. La adsorción de compuestos catiónicos a sustancias húmicas disminuye con la disminución del pH debido a la protonación de los grupos -COO^- y Ph-O^- del polímero orgánico. El pH también afecta a la ionización de los plaguicidas con características ácidas o básicas e influye directamente en el proceso de adsorción. El efecto del pH, por tanto, depende del carácter ácido o básico del compuesto así como de la carga de la superficie adsorbente.

La fuerza iónica asume un papel importante en los procesos de adsorción por cambio iónico, ya que con el aumento de la fuerza iónica disminuye la adsorción debido a la competencia por los sitios de adsorción entre el soluto y los iones en disolución (Watson et al., 1973). Según Calvet (1989), en el caso de moléculas neutras se observa que un aumento de la fuerza iónica por encima de la unidad da lugar a un aumento de la adsorción, mientras que para valores por debajo de la unidad no existe una tendencia general.

d) Otros factores

La influencia que otros factores como la humedad del suelo, la temperatura o el tiempo de residencia del plaguicida en el suelo pueden ejercer sobre la adsorción ha quedado bien demostrada en diversos estudios. En general, la adsorción aumenta al disminuir el contenido en agua del suelo, al disminuir la temperatura y al aumentar el tiempo de residencia del plaguicida en el suelo (Calvet, 1989).

I.3.1.1.3. Predicción de la adsorción

La predicción de la adsorción de un plaguicida en un determinado medio es importante para conocer el destino final de éste.

Una alternativa para la caracterización experimental de la adsorción para una determinada combinación plaguicida-suelo es el uso de procedimientos de estimación basados en buenas correlaciones previamente observadas entre la adsorción y propiedades del suelo fácilmente medibles. Estas estimaciones de la adsorción pueden también proporcionar una valiosa información en la predicción de cambios en la adsorción como consecuencia de variaciones espaciales y temporales de las propiedades del suelo. Por ejemplo, Oliveira et al. (1999) identificaron dos patrones distintos para la adsorción de imazetapir en el campo: para áreas con $\text{pH} > 6.25$ y $K_d > 1.25$, la variación de K_d dependía principalmente del pH, y para áreas con $\text{pH} < 6.25$ y $K_d > 1.25$, otras propiedades del suelo, como el contenido en carbono orgánico, tuvieron una influencia significativa en la variación de K_d . A continuación, se describen ejemplos de importantes propiedades físico-químicas que han sido correlacionadas con la adsorción de compuestos orgánicos.

Contenido en carbono orgánico

La aproximación más aceptada para la estimación de la adsorción a partir de las propiedades del suelo es que la asume la dependencia directa entre la adsorción de compuestos orgánicos y el contenido en materia orgánica del suelo (Chiou, 1989). Una relación basada en el contenido en carbono orgánico del suelo fue introducida por Hamaker y Thompson (1972) para el análisis de las constantes de adsorción, de modo que se suele expresar el coeficiente de distribución, K_d , normalizado al contenido en carbono orgánico (f_{oc}); es el denominado K_{oc} que se define como:

$$K_{oc} = \frac{K_d}{f_{oc}} \qquad \text{Ec. I. 5}$$

Este parámetro asume que la materia orgánica es la principal responsable de la adsorción del compuesto orgánico e ignora, por tanto la contribución de la fracción mineral en la adsorción de dichos compuestos, siendo principalmente válido para moléculas no polares (Sheng et al., 2001). Así, el uso de K_{oc} . Pusino et al.

(1992) observaron una reducción en la variación de las constantes de adsorción para metolaclor desde 17 a 4 l/kg tras normalizar la adsorción al contenido en carbono orgánico del suelo. También observaron una disminución en los valores de K_d tras la reducción del contenido en materia orgánica del suelo por tratamiento con H_2O_2 , mostrando el papel de la materia orgánica en la adsorción del herbicida metolaclor. Por el contrario, Cox et al. (1997a) y Celis et al. (1997a) observaron un aumento en los coeficientes de adsorción de herbicidas polares con la peroxidación, indicando una mayor contribución de las superficies minerales en la adsorción de los plaguicidas cuando se elimina la materia orgánica. La alta contribución de las superficies minerales en la adsorción de los plaguicidas en el suelo es una razón de la variabilidad de los valores de K_{oc} . Las variaciones entre los valores de K_{oc} entre los suelos también pueden indicar que la naturaleza de la materia orgánica afecta a su capacidad adsorbente. Este modelo predictivo está basado generalmente en la linealidad del proceso y en la ausencia de fenómenos de competencia entre moléculas de soluto. Sin embargo, se recogen en la bibliografía adsorciones no lineales para compuestos no polares o débilmente polares cuando se purifican partículas sólidas de ácidos húmicos o incluso disueltas (Pignatello, 2012). La no linealidad puede ser consecuencia de adsorción preferente a determinados sitios de adsorción en la materia orgánica, dependiendo de los diferentes estados energéticos, de modo que surge cierta selectividad en la adsorción. Existen estudios que intentan correlacionar la intensidad de la adsorción con la abundancia de determinados grupos funcionales basados en análisis mediante ^{13}C -RMN. Chefetz y Xing (2009) en una recopilación bibliográfica no encontraron correlación entre el contenido aromático y los valores de K_{oc} de adsorbentes naturales; sin embargo, existió una débil correlación entre el contenido aromático (no alifático) y la no linealidad en las isothermas.

Contenido en arcilla

La fracción mineral del suelo puede contribuir significativamente al proceso de adsorción en los casos de compuestos muy polares o iones orgánicos, además de en suelos con bajo contenido en carbono orgánico (Celis et al., 2006). Se han realizado esfuerzos para incluir esta contribución en los procedimientos de

estimación de la adsorción. Hermosín et al. (2000) sugirieron el uso de un coeficiente de adsorción normalizado al contenido en arcilla, K_{clay} :

$$K_{clay} = \frac{K_d}{f_{clay}} \quad \text{Ec. I. 6}$$

donde f_{clay} representa la fracción arcillosa del suelo (suma de los componentes inorgánicos y orgánicos en la fracción $< 2 \mu m$). Así, mostraron que para muchos plaguicidas, iónicos e ionizables, ocurría un descenso en el coeficiente de variación desde K_d a K_{clay} . Este hecho indica el comportamiento más homogéneo de la fracción arcilla en la adsorción del plaguicida comparándolo con el del suelo en su totalidad.

La predicción de la adsorción a partir de la composición coloidal del suelo es más compleja si tenemos en cuenta que los procesos de asociación entre los diferentes componentes del suelo pueden alterar en gran medida la capacidad adsorbente de los componentes individuales, como ha sido estudiado recientemente por Celis et al. (2006) para la adsorción de fenantreno y dibenzofurano, quienes observaron cómo los componentes minerales disminuyeron la adsorción de estos compuestos por parte de la materia orgánica del suelo.

Otras propiedades

Aunque su uso ha sido más limitado, se han utilizado predicciones alternativas como la basada en regresiones lineales entre los valores de K_d medidos para 35 plaguicidas y la superficie específica (SSA) del suelo. Pionke y DeAngelis (1980) desarrollaron una metodología para predecir K_d a partir de SSA. Para un grupo diverso de plaguicidas, la regresión lineal de K_d con SSA dio coeficientes de determinación mucho más altos que los obtenidos con la regresión lineal de K_d con el contenido en carbono orgánico, indicando la utilidad de la aproximación de la SSA (Green et al., 1990). Distintos autores han propuesto procedimientos de estimación de la adsorción similares incluyendo otras propiedades del suelo fácilmente

medibles como el pH, propiedades texturales o capacidades de intercambio catiónico (Oliveira et al., 1999; Dubus et al., 2001).

I.3.1.2. Lixiviación

La lixiviación es el proceso por el cual el agua, procedente de la lluvia o el riego, arrastra o disuelve moléculas de plaguicida dando lugar a un movimiento vertical a lo largo del perfil del suelo, lo que incide tanto en la efectividad biológica del plaguicida como en la contaminación de aguas subterráneas. El riesgo de contaminación de acuíferos por el transporte vertical de un plaguicida está determinado fundamentalmente por el balance entre la velocidad de transporte a través del suelo y la degradación a lo largo del perfil, ya que este último proceso disminuye el riesgo de contaminación de las aguas subterráneas (Bowman, 1989).

I.3.1.2.1. Estudio de la lixiviación

La lixiviación del plaguicida puede estudiarse en el laboratorio o en el campo. Si bien los estudios de campo reflejan situaciones reales, resultan mucho más difíciles de interpretar por el elevado número de variables que intervienen. Aunque los estudios de laboratorio pueden no ser totalmente representativos de condiciones reales, en ellos se controlan los factores que influyen en el experimento y, por lo tanto, son muy convenientes a la hora de evaluar la influencia de parámetros individuales en el proceso de lixiviación.

Los **métodos de laboratorio** que se emplean más frecuentemente para el estudio de la lixiviación son la cromatografía de capa de suelo y sobre todo la percolación en columnas. Esta última consiste en determinar el movimiento vertical del plaguicida en columnas de suelo tras la adición de diferentes volúmenes de agua, previa aplicación del plaguicida en la superficie de la columna. Pueden usarse columnas de suelo empaquetadas a mano o columnas de suelo inalterado. En ambos casos suele analizarse la cantidad de plaguicida lixiviado y la cantidad residual en las distintas profundidades de la columna al finalizar el experimento. La

forma usual de presentación de los resultados suele ser a través de las denominadas curvas de elución en las cuales se representa la concentración de plaguicida en los lixiviados (curvas relativas) frente al volumen de agua adicionado. La forma específica de estas curvas es dependiente de las propiedades físico-químicas del plaguicida y del suelo considerado, de la composición química de la disolución e interacciones entre el plaguicida y suelo, así como de la estructura del suelo a través del cual se produce el movimiento del compuesto. Algunos ejemplos hipotéticos se representan en la Figura I.13. Mientras mayor sea la adsorción, más anchas serán las curvas de elución y mayor el desplazamiento del máximo de la curva hacia la derecha (Fig. I.13). La situación A) se corresponde con aquellos sistemas en los que el suelo es un medio poroso granular homogéneo débilmente estructurado. Por el contrario, en sistemas dominados por la presencia de macroporos habrá un movimiento rápido del agua y por lo tanto del plaguicida, los máximos de las curvas estarán bien definidos y las “colas” de las curvas de elución serán largas (Fig. I.13C). La situación B) se corresponde con una situación intermedia, es decir, un sistema heterogéneo sin una estructura definida. La rapidez con la que se mueva el plaguicida dependerá de la frecuencia, tamaño y continuidad de los macroporos, mientras que la longitud y altura de las colas estará controlada por procesos de difusión y adsorción/desorción (Beck et al., 1993).

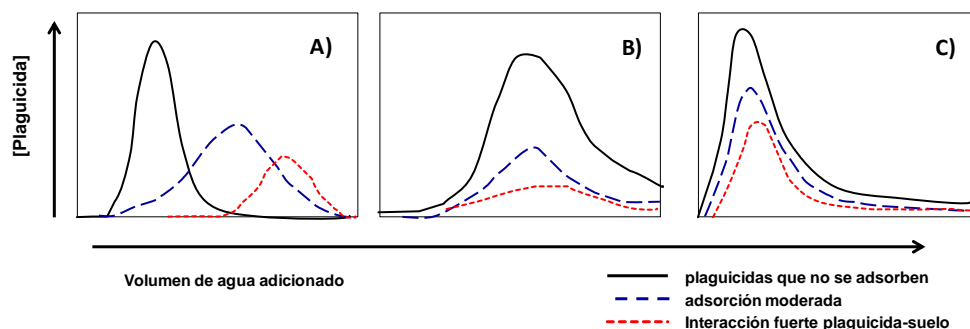


Figura I.13. Curvas hipotéticas de elución de plaguicidas en suelos estructurados con diferentes sistemas de poros y distinta interacción del plaguicida-suelo.

Los **estudios de campo** tienen la ventaja de llevarse a cabo bajo condiciones reales del suelo, en las que éste mantiene su estructura original y se dan las condiciones normales de campo. Los métodos más empleados son los lisímetros y las extracciones con barrena.

Los lisímetros consisten en un tubo que oscila entre 10 a 50 cm de diámetro y de 50 a 150 cm de longitud. En general, están hechos de acero inoxidable o PVC. Uno de los extremos está afilado para facilitar su penetración en el suelo y en él se coloca un tamiz para impedir que lleguen partículas del suelo al recipiente colector, que suele ser de vidrio. Los lixiviados se recogen por succión mediante un tubo de plástico o teflón. Los lisímetros, al ser sistemas cerrados, permiten el control exacto del agua que percola a través del suelo (Bergström, 1990).

Mediante las extracciones con barrena puede evaluarse el movimiento vertical del plaguicida en el campo analizando muestras tomadas a diferentes profundidades y a diferentes tiempos tras la aplicación del producto.

I.3.1.2.2. Factores que influyen en la lixiviación

Los principales factores que afectan a la lixiviación de los plaguicidas en suelos son las propiedades físico-químicas del plaguicida, la adsorción por los coloides del suelo, las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo, la estructura del suelo, el clima, la forma y época de aplicación y prácticas culturales (riego, laboreo, etc.). A continuación, se exponen brevemente los principales factores que más relevancia tienen en la lixiviación de plaguicidas:

Adsorción por los coloides del suelo: La adsorción del plaguicida a las partículas del suelo generalmente retrasa su movimiento vertical a través del mismo de modo que existe una relación inversa entre lixiviación y adsorción (Beck et al., 1993; Cornejo et al., 2005). Como se ha detallado anteriormente es la fracción coloidal del suelo la responsable de la adsorción de compuestos orgánicos y entre ellos los plaguicidas. Por otro lado, con los procesos de desorción los plaguicidas

vuelven a estar en disolución y, por lo tanto, pueden movilizarse a lo largo del perfil del suelo mediante los procesos de lixiviación (Worral et al., 1999).

Existe un caso especial que es el de transporte facilitado por el que se transportan en suspensión las sustancias unidas a los coloides. Este tipo de transporte cobra más importancia en los casos en que las partículas coloidales en suspensión son muy abundantes, los compuestos son fuertemente adsorbidos a los coloides y en compuestos con baja solubilidad en agua (McCarthy y Zachara, 1989; McGechan y Lewis, 2002).

En este sentido la materia orgánica soluble (MOS) puede jugar un papel muy importante. Está bien documentado que la MOS, además de poder facilitar la adsorción del plaguicida al suelo evitando su lixiviación (Fig. I.13), puede causar dos tipos de efectos negativos para el control de la lixiviación (Celis et al., 1998a,b; Barriuso et al., 2011): a) favorecer los procesos de desorción de los plaguicidas por procesos de competencia por asociación de la materia orgánica soluble con la matriz del suelo, b) asociación de las moléculas de plaguicida a la materia orgánica soluble facilitándose el movimiento a través del perfil del suelo. La representación esquemática de estos procesos se muestra en la Fig. I.14:

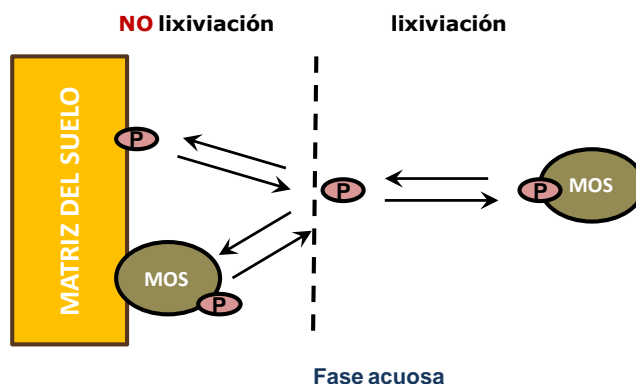


Figura I.14. Representación esquemática de las interacciones entre plaguicidas (P), materia orgánica soluble (MOS) y el suelo.

Estructura del suelo: El movimiento vertical de los plaguicidas en el suelo tiene lugar a través de: a) macroporos (flujo preferencial), donde predominan los procesos de transporte hidrodinámico y difusión y b) lentamente, a través de los microporos, donde predominan los procesos de difusión, adsorción y degradación (Cox et al., 1997b).

Una excepción a la relación directa entre la adsorción y la lixiviación de la molécula orgánica es el transporte a través de zonas con flujos preferenciales o macroporos, que permiten al plaguicida pasar a grandes profundidades del perfil del suelo sin tener contacto con la matriz del mismo (Flury, 1996). De Jonge et al. (2000) observaron que el transporte de glifosato, altamente adsorbible, en columnas de suelo inalteradas estaba fuertemente gobernado por el flujo a través de macroporos. En este sentido, el sistema de laboreo puede influir reduciendo la cantidad de macroporos en el horizonte superficial y, por lo tanto, disminuyendo los flujos preferenciales de los plaguicidas (Cox et al., 1999a). Este tipo de fenómeno es también la razón de por qué la lixiviación de plaguicidas es normalmente más rápida que la predicha por modelos simples, si bien en la última década se han llevado a cabo importantes esfuerzos para predecir el movimiento de plaguicidas mediante el uso de modelos teniendo en cuenta este mecanismo, aunque aún se requiere el perfeccionamiento de los mismos (Kohne et al., 2009).

Características del plaguicida: Las principales características del plaguicida que influyen en su lixiviación son aquellas que determinan el grado de retención por los coloides del suelo, como por ejemplo la ionizabilidad, solubilidad en agua, presión de vapor y carácter hidrófobo (Weber et al., 1980).

Plaguicidas catiónicos, como es el caso del paraquat y diquat, son poco móviles, debido a los fuertes enlaces iónicos que forman con el complejo de cambio catiónico de los coloides del suelo. Herbicidas con propiedades básicas, como las s-triazinas, presentan una movilidad de baja a moderada, que será dependiente del pH de los suelos. Teniendo en cuenta la relación inversa existente entre el pH y la adsorción de bases débiles, la movilidad será mayor bajo condiciones neutras o alcalinas que bajo condiciones ácidas. Por su parte, los herbicidas con carácter ácido, como es el caso de los fenoxiácidos, sulfonilureas, imidazolinonas, etc.,

suelen ser muy móviles, debido a su baja adsorptividad. Al pH del suelo, en condiciones normales mayor que el pKa de la molécula, estos herbicidas se encuentran cargados negativamente y, por tanto, son poco retenidos tanto por las arcillas como por la materia orgánica del suelo, debido a la repulsión de sus cargas electrostáticas. Los herbicidas no iónicos poco solubles en agua, como el oxifluorfen (solubilidad en agua = 0.1 mg/l), son muy poco móviles en disolución debido a su baja solubilidad (Kogan et al., 2007), si bien pueden ser móviles en estado gaseoso, cuando tienen una alta presión de vapor, lo que puede conllevar pérdidas por volatilización (Glottelty y Caro, 1975). Plaguicidas más solubles, como el fluometuron (solubilidad en agua= 100 mg/l), son muy móviles, debido a su baja adsorptividad.

Aporte de agua: La intensidad y frecuencia de aporte de agua, ya sea por lluvia o riego, afectan en gran medida al movimiento y distribución de los plaguicidas en el suelo. Las lluvias poco después de la aplicación de un plaguicida tienen una gran influencia en la cantidad de plaguicida lavado, ya que la retención aumenta progresivamente con el tiempo de residencia (Wauchope, 1978; Cox et al., 1998).

Prácticas culturales: La estructura del suelo y su porosidad se alteran por prácticas culturales como la adición de residuos orgánicos y los sistemas de laboreo de conservación, que también pueden alterar el contenido de materia orgánica, influyendo, por tanto, estas prácticas en la movilidad de los plaguicidas (Cox et al., 1997b).

I.3.1.2.3. Predicción de la lixiviación

Son múltiples los modelos matemáticos existentes encaminados a predecir el movimiento de plaguicidas una vez éstos han alcanzado el suelo y están disponibles en la zona radicular de las plantas: MOUSE (Steenhuis et al., 1984); PRZM (Carsel et al., 1984); MARTHE (Thiery, 1990); GLEAMS (Davis et al., 1990); HYDRUS-1D (Kool y van Genuchten, 1999); LEACHP (Hutson y Wagenet, 1992); HYDRUS-2D (Simunek et al., 1996); PESTLA (Van den Berg y Boesten, 1998), entre otros. Estos modelos generalmente requieren el conocimiento de un gran número de parámetros tales como tipo de suelo, clima, cultivo, propiedades

químicas del plaguicida, etc., que a veces no están disponibles. A pesar de su relevancia desde el punto de vista básico, estos modelos no están bien diseñados para proporcionar a los legisladores herramientas necesarias para determinar criterios adecuados (Bernard et al., 2005).

Una alternativa son los denominados métodos de “*screening*”, que utilizan índices más sencillos de determinar y que pueden dar una orientación acerca de la movilidad de los plaguicidas para alcanzar más allá de la zona radicular de los cultivos hasta llegar a aguas subterráneas. Entre ellos podemos destacar el índice GUS (Groundwater Ubiquity Score) definido por Gustafson (1989) quien clasifica la capacidad de lixiviación hacia aguas subterráneas de un compuesto químico según el efecto combinado de los procesos de degradación y adsorción:

$$GUS = \log t_{1/2} \times 4 - \log K_{oc} \quad \text{Ec. I. 7}$$

donde $t_{1/2}$ es la vida media del compuesto en el suelo, teniendo en cuenta cinéticas de primer orden, y K_{oc} es el coeficiente de adsorción normalizado al contenido de carbono orgánico. Así, valores de $GUS > 2.8$ indican un riesgo de lixiviación elevado, $GUS < 1.8$ indican un riesgo de lixiviación bajo y los comprendidos entre estos dos valores se asocian a un riesgo de lixiviación intermedio.

Otro de los índices es el propuesto por agencia para la protección ambiental de los Estados Unidos (USEPA), junto con el California Department of Food and Agriculture (CDFA), el criterio USEPA/CDFA. Al evaluar el potencial contaminante de un plaguicida es necesario también considerar conjuntamente su vida media y su coeficiente de adsorción. Por ejemplo, un plaguicida con $K_{oc} < 100$ ml/g (pequeño) y una $t_{1/2} > 100$ días (grande) presenta una importante amenaza de poder lixiviar, especialmente en suelos con poca materia orgánica. Por otro lado, con $K_{oc} > 100$ ml/g y elevado $t_{1/2}$, tiene mayor posibilidad de permanecer en la superficie de suelos con concentraciones moderadas de materia orgánica, aumentando la posibilidad de ser arrastrados por las aguas superficiales. Para plaguicidas con vidas medias cortas < 30 días, su posibilidad de contaminación depende de la existencia de

fuertes lluvias o regadío producidas inmediatamente después de su aplicación. Sin agua que lo transporte, los plaguicidas de $t_{1/2}$ corta permanecen en la zona biológicamente activa y se degradan fácilmente.

Por último, el potencial de lixiviación (LP) desarrollado por Laskowski et al. (1982) estima el potencial de lixiviación del pesticida hasta el momento de su degradación. Su utilidad es muy similar a la del GUS y se puede calcular mediante la siguiente expresión:

$$LP = \frac{S \times t_{1/2}}{P_v \times K_{oc}} \quad \text{Ec. I. 8}$$

siendo S la solubilidad en agua, $t_{1/2}$ la vida media, P_v la presión de vapor del plaguicida y K_{oc} el coeficiente de adsorción normalizado al contenido de carbono orgánico.

Estos tres índices (GUS, LP y criterio USEPA/CDFA) de estimación del potencial de lixiviación de pesticidas están basados en las características fisicoquímicas de los mismos y toman valores únicos para cada uno.

Por otro lado se describen a continuación dos índices que consideran tanto las propiedades del plaguicida como las características del medio por donde se va a infiltrar, por lo que su valor varía según el suelo donde se apliquen.

Factor de retardo (FR): desarrollado por Rao et al. (1985), este índice refleja la movilidad de un plaguicida a través del suelo asumiendo condiciones de adsorción lineal, instantánea y reversible. Se define como:

$$FR = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_d \quad \text{Ec. I. 9}$$

donde ρ (g/cm^3) se corresponde con la densidad aparente del suelo, θ es el contenido volumétrico de agua del suelo dado en cm^3/cm^3 y K_d es el coeficiente de distribución (cm^3/g).

Factor de atenuación (FA): propuesto también por Rao et al. (1985) y al igual que el factor de retardo, deriva de los modelos de transporte, y se basa en el

hecho de que la concentración de pesticida se va reduciendo a medida que va recorriendo la capa no saturada. Expresa la cantidad de pesticida que puede pasar a partir de una determinada profundidad. Se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$FA = \exp \frac{-0.693d \theta FR}{q t_{1/2}} \quad \text{Ec. I. 10}$$

donde d es la profundidad de la capa freática, FR es el factor de retardo, θ es el contenido volumétrico de agua del suelo q es el flujo volumétrico de agua en el suelo y $t_{1/2}$ es el tiempo de vida media del plaguicida en el suelo.

I.3.1.3. Escorrentía

El proceso de **escorrentía** se define como el arrastre superficial de agua o cualquier materia disuelta o en suspensión. Específicamente para plaguicidas, se refiere al agua procedente de una superficie tratada que contiene plaguicidas bien disueltos o adsorbidos en la materia en suspensión o en sedimentos (Leonard, 1990). Según Wauchope (1978), las pérdidas de plaguicidas por escorrentía tienen lugar en disolución, en el caso de plaguicidas muy solubles en agua, o con el plaguicida adsorbido a los coloides del suelo para plaguicidas poco solubles en agua. Hay que destacar que los procesos de escorrentía y lixiviación están íntimamente relacionados, puesto que durante el proceso de escorrentía se produce un movimiento lateral de los plaguicidas hacia aguas superficiales que no contribuirán al movimiento a través del perfil de suelo o lixiviación. Existen principalmente dos tipos de escorrentía:

1) exceso de infiltración o flujo terrestre hortoniano: cuando la tasa de precipitación en una superficie excede la tasa a la cual el agua puede infiltrarse en la tierra y cualquier cuenca para almacenamiento está ya llena. Se produce con más frecuencia en regiones áridas y semiáridas, donde las intensidades de precipitación son altas y la capacidad de infiltración del suelo es reducida debido a la impermeabilización de la superficie, o en áreas pavimentadas.

2) Flujo terrestre con exceso de saturación: cuando el suelo está saturado y la cuenca de almacenamiento llena, la precipitación producirá inmediatamente una escorrentía superficial. El nivel precedente de humedad del suelo es un factor que afecta al tiempo que pasará hasta que el suelo se sature. Esta escorrentía se conoce también como flujo terrestre saturado (Reichenberger et al., 2007).

I.3.1.3.1. Factores que influyen en la escorrentía de plaguicidas

Los factores más importantes que determinan las pérdidas por escorrentía están relacionados con las condiciones climáticas, las características del suelo y del plaguicida y las prácticas culturales (Flury, 1996).

Condiciones climáticas: cuando se produce un episodio de lluvia es muy importante el tiempo que ha transcurrido desde la aplicación del plaguicida, así como la intensidad y duración del evento, contenido inicial de agua del suelo, y otros factores que afecten a la capacidad de infiltración de agua en el suelo. Así, las mayores concentraciones de plaguicida se obtienen cuando los episodios de lluvias ocurren poco después de la aplicación de los plaguicidas, dado que las concentraciones de plaguicidas disminuyen con el tiempo. Por otro lado, como la escorrentía tiene lugar cuando las precipitaciones superan la tasa de infiltración, cuanto más intensa sea la lluvia, mayor cantidad de plaguicida será extraído del suelo y transportado (Van der Werf, 1996). La temperatura también puede afectar, de manera que una mayor temperatura puede solubilizar los plaguicidas para que sean más fácilmente transportados (Leonard, 1990).

Características del suelo: la textura del suelo afecta a la tasa de infiltración haciendo que la escorrentía suela ser más pronunciada en suelos de textura fina. Otro factor importante es el contenido en materia orgánica que además de influir en la erosión de los suelos, también afecta al transporte facilitado por la materia particulada (Leonard, 1990). Asimismo, cuanto mayor sea el contenido inicial de agua del suelo al comienzo de las precipitaciones mayor posibilidad de escorrentía.

Estos procesos están más favorecidos cuanto mayor sea la pendiente (Wauchope, 1978).

Características del plaguicida: las principales características de los plaguicidas que influyen en su transporte superficial son la solubilidad, propiedades de adsorción, polaridad, persistencia y forma y dosis de aplicación. En cuanto a la solubilidad, los plaguicidas solubles, por regla general, pueden estar disponibles más fácilmente para los primeros episodios de lluvias, cuando el tiempo de precipitaciones es corto y las concentraciones en las aguas de escorrentía pueden incrementar por la elevada solubilidad del compuesto. Por otro lado, los plaguicidas que son fuertemente adsorbidos al suelo podrán ser susceptibles de ser transportados si se produce erosión del suelo o arrastre de partículas durante la escorrentía. Normalmente, los compuestos no polares tienen más afinidad por la materia orgánica mientras que los compuestos polares o ionizables se ven afectados por las superficies minerales y el pH de los suelos, lo que influirá en ser más o menos arrastrados por las precipitaciones. Al mismo tiempo, plaguicidas más persistentes permanecerán más tiempo en la superficie existiendo, por tanto, mayor riesgo de pérdidas por escorrentía durante mayor tiempo. Finalmente, tanto la forma como la dosis de aplicación son factores determinantes para la escorrentía; formulaciones con mayor poder humectante son particularmente más susceptibles al transporte a la vez que a mayor dosis de aplicación, mayor concentración de plaguicida en la escorrentía (Leonard, 1990).

Prácticas culturales: aquellas estrategias que para el control de la erosión ayudan a controlar las pérdidas de plaguicidas por escorrentía. Así, las cubiertas vegetales, las franjas de protección y las técnicas de mínimo laboreo disminuyen el riesgo de escorrentía (Lozano-García et al., 2011).

I.3.1.3.2. Predicción de la escorrentía

Para simular las pérdidas de plaguicidas por escorrentía se han desarrollado diversos modelos computacionales. Estos estudios se han llevado a cabo para un amplio rango de plaguicidas con diferentes características físicoquímicas, tipos de manejo, y condiciones edafoclimáticas. Estos modelos no facilitan predicciones para la escorrentía en términos de valor absoluto con un elevado grado de precisión, pero sí pueden proporcionar información para comparaciones relativas entre distintas alternativas de manejo, situaciones climatológicas y otras variables (Leonard, 1990).

Entre los modelos predictivos de la escorrentía se encuentran: el Chemical Migration and Risk Assessment (CMRA) (Onishi et al., 1985), metodología que incluye el Agricultural Runoff Management (ARM) (Donigian et al., 1976) y Chemicals, Runoff and Erosion from Agricultural Management Systems (CREAMS) (Knisel, 1980) y más recientemente Soil and Water Assessment Tool (SWAT) (Arnold et al., 1998). Estos modelos tienen en cuenta el transporte tanto de los plaguicidas disueltos como los adsorbidos a los sedimentos bajo la influencia de ciertas variables, como pueden ser: condiciones climáticas, características de los compuestos, etc. Sin embargo, se han de seguir mejorando puesto que no consideran todos los procesos que ocurren cuando tiene lugar el transporte por escorrentía, como por ejemplo la transferencia de los plaguicidas disueltos a los sedimentos, lo que complica la extrapolación de los resultados a las distintas situaciones (Boithias et al., 2011). Ante esta problemática, son más los estudios encaminados a incidir directamente en el transporte de plaguicidas derivado de la escorrentía con el fin de evitar las pérdidas de los compuestos. Ejemplos de estas técnicas o métodos serían disminuir la dosis de aplicación de plaguicidas, franjas de protección, laboreo de conservación, cubiertas vegetales o determinadas formulaciones, siendo la eficacia de estos métodos variables en cada situación (Reichenberger et al., 2007).

I.3.1.4. Otros procesos de transporte

Otros procesos de transporte que en diversas circunstancias pueden tener una gran importancia en la dinámica y el comportamiento de los plaguicidas en el medio ambiente son: la volatilización, la difusión y la absorción por plantas y microorganismos.

La **volatilización** consiste en el paso del plaguicida a la fase gaseosa, a través de la cual puede transportarse a puntos muy alejados del lugar de aplicación. Afecta al plaguicida que permanece en la superficie del suelo o de las plantas y en menor proporción al plaguicida disuelto en la disolución del suelo (Thomas, 1982).

La **difusión** es el proceso por el cual el plaguicida se traslada en el suelo debido a su energía térmica. Por este proceso se produce un movimiento neto desde posiciones de alta concentración hasta otras de menor concentración. Los factores que afectan a la difusión del plaguicida en el suelo son: a) la temperatura; b) la solubilidad, densidad de vapor y grado de adsorción del plaguicida; c) cantidad de agua y porosidad del suelo.

La **absorción** de los plaguicidas existentes en el suelo por parte de las plantas tiene lugar a través del sistema radicular. Este movimiento está supeditado en gran medida a la fijación del plaguicida a los coloides del suelo y constituye la finalidad de la aplicación de los productos fitosanitarios a los suelos. Las plantas y microorganismos asimilan plaguicidas acumulándolos y metabolizándolos. La gran variedad de plantas y organismos resistentes a determinados plaguicidas, lo son porque los metabolizan a compuestos no tóxicos, lo que constituye una vía natural de descomposición (Schmidt y Fedtke, 1977).

I.3.2. Procesos de transformación

Los procesos de transformación o degradación que afectan a los plaguicidas en los suelos se pueden dividir, según su origen, en tres grandes grupos: procesos de degradación química, procesos de degradación microbiana (biodegradación) y procesos de fotodegradación. Estos procesos conducen a la desaparición del

producto, generalmente con formación de compuestos de menor toxicidad, por lo que reducen la contaminación de plantas y aguas superficiales y subterráneas (Cheng y Lehmann, 1985). No obstante, a veces los productos de degradación pueden resultar más tóxicos para ciertos organismos que el propio plaguicida del que proceden.

I.3.2.1. Degradación química

Las reacciones de degradación química más frecuentes son las reacciones hidrolíticas y de sustitución y las reacciones redox, y pueden ocurrir tanto en disolución como catalizadas por la superficie de las partículas del suelo (Cornejo et al., 1983). Los factores más importantes que afectan a los procesos de degradación química son el pH, el potencial redox, la temperatura y la composición de la disolución y de la fracción coloidal del suelo. La adsorción del plaguicida a los coloides del suelo puede tener un doble efecto, ya que puede proteger al plaguicida de la degradación química, pero también puede potenciarla, como en el caso de reacciones catalizadas por la superficie de los componentes coloidales. Los cationes de cambio de los minerales de la arcilla y el agua de hidratación participan en muchas reacciones de degradación catalizadas por la superficie (Russell et al., 1968; Laird, 1996). Así por ejemplo, se ha visto que la elevada acidez superficial de minerales de la arcilla esmectíticos, originada por la elevada polarización del agua de hidratación de los cationes de cambio, favorece la degradación química de herbicidas como la atrazina y la simazina a los hidroxi-derivados correspondientes (Laird, 1996; Celis et al., 1997b).

I.3.2.2. Fotodegradación

La fotodegradación consiste en la transformación del plaguicida inducida por la luz solar (Horspool, 1970), que puede tener lugar mediante reacciones de oxidación, reducción, hidrólisis, sustitución e isomerización. Esta reacción es importante en los primeros milímetros del suelo, en la superficie de las plantas y en ecosistemas acuáticos. A medida que el plaguicida penetra en el suelo, los procesos

de fotodegradación son menos frecuentes, debido a que la radiación solar puede llegar a atenuarse hasta un 90% en los primeros 0.2 mm del suelo.

El proceso de fotodescomposición depende de factores como la intensidad y tiempo de exposición del plaguicida a la radiación solar, la presencia de catalizadores fotoquímicos, que pueden favorecer la descomposición, el pH del suelo, el grado de aireación del suelo, el estado en el que se encuentra el plaguicida (sólido, en disolución, vapor, etc.), el grado de adsorción y la estructura química del plaguicida.

La fotodegradación puede ser directa, cuando el plaguicida se degrada por la acción directa de la radiación solar, o indirecta, cuando la energía de la radiación solar es absorbida por otros compuestos que luego transmiten esa energía a la molécula del plaguicida o bien dan lugar a especies reactivas intermedias que pueden entrar en reacción con el plaguicida (Mansour et al., 1989).

I.3.2.3. Biodegradación

Los procesos de biodegradación se deben fundamentalmente a la microflora del suelo (bacterias y hongos). En la biodegradación de plaguicidas se generan minerales como NH_3 , CO_2 y H_2O . La tasa de biodegradación suele aumentar con la temperatura y con el aumento de la humedad del suelo hasta capacidad de campo (Parker y Doxtader, 1983; Allen y Walter, 1987), debido a un aumento de la población microbiana. Cuando la transformación no es total, el pesticida es degradado a otros productos cuya toxicidad, movilidad y efectos sobre el medio son mucho menos conocidos, a pesar de que en ocasiones se trata de compuestos más tóxicos y persistentes que los productos de partida.

Cinética de la biodegradación de plaguicidas. La curva de biodegradación de un plaguicida es importante porque dicta la disponibilidad del mismo en las estaciones de crecimiento, la contaminación de aguas superficiales y subterráneas, la bioacumulación en la macrobiota y la pérdida de eficacia. Habitualmente se considera que los herbicidas se degradan siguiendo una cinética

de primer orden, donde la velocidad de degradación es proporcional a la concentración (Fig. I.15).

Para los plaguicidas que son cometabolizados, es decir, no usados como sustrato de crecimiento, se asume que una cinética de primer orden es apropiada. La expresión cinética más exacta es, de hecho, la cinética de pseudo-primer orden, donde la tasa depende tanto de la concentración de plaguicida como del número de microorganismos degradadores de plaguicida. Sin embargo, debido a las dificultades que entraña numerar estos microorganismos, se usan las constantes de primer orden o la vida media. Los plaguicidas con una vida media por debajo de 10 días se consideran poco persistentes; los plaguicidas con una vida media por encima de 100 días se consideran relativamente persistentes (Kearney et al., 1997).

Para los plaguicidas usados por los microorganismos como sustratos de crecimiento es frecuente observar curvas sigmoidales de biodegradación (Fig. I.15). Los datos de la curva sigmoideal son más difíciles de interpretar que los de la curva exponencial (primer orden) debido a su no linealidad. La curva sigmoideal del plaguicida metabolizado se puede describir usando una cinética de crecimiento microbiano; sin embargo, se requieren cuatro constantes cinéticas. Por consiguiente, es más difícil predecir la persistencia del plaguicida en el medio ambiente.

Es frecuente observar la variabilidad (espacial y temporal) en la curva de biodegradación de algunos plaguicidas. Las curvas de biodegradación tienden a ser específicas debido a las diferencias en el número de degradaciones específicas del plaguicida, la biodisponibilidad del plaguicida y parámetros del suelo tales como la temperatura, humedad y pH. La curva del metabolismo es directamente proporcional a la densidad de población de los microorganismos que degradan el plaguicida así como a la biodisponibilidad de este último. Diversos estudios indican que el plaguicida adsorbido en las partículas del suelo no está inmediatamente disponible para la biodegradación (Ogram et al., 1985; Koskinen et al., 2001); sin embargo, recientemente, varios autores han sugerido que las bacterias pueden acceder a regiones específicas donde el plaguicida está adsorbido (Park et al., 2001; Singh et al., 2003; Hermosín et al., 2006). Bajo ciertas condiciones límite, existe una correlación positiva entre la curva del metabolismo y la temperatura del suelo, la

humedad y el pH, aunque existe una excepción, como por ejemplo, las reacciones oxidativas que son menos probables que ocurran en el agua del suelo debido a la baja difusión de oxígeno, mientras que las transformaciones catalizadas por hongos son más frecuentes a bajo pH y/o en suelos húmedos (Kearney et al., 1997).

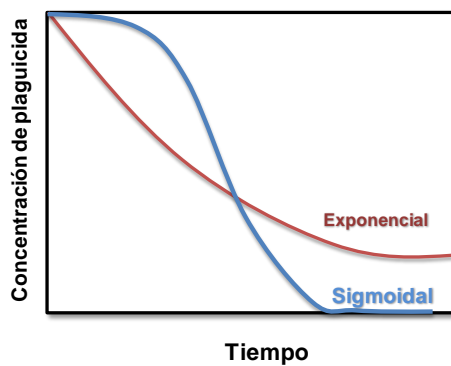


Figura I.15. Cinéticas de la biodegradación de plaguicidas

I.4. Estrategias para reducir los efectos adversos de los plaguicidas: Uso de minerales de la arcilla y de residuos orgánicos (alperujo)

El uso intensivo de plaguicidas como práctica agrícola convencional ha aumentado dramáticamente en los últimos años existiendo gran preocupación actualmente acerca de los posibles efectos negativos medioambientales y sobre la salud humana (Renaud et al., 2004; Majumdar y Singh, 2007; Song et al., 2008). En consecuencia, uno de los principales problemas actuales, como ha quedado patente previamente, es sin duda, la contaminación del entorno y especialmente de las aguas superficiales y subterráneas por plaguicidas (Hermosín et al., 2009). La presencia de estos contaminantes hace necesario su control y eliminación y son muchos los esfuerzos científicos encaminados a resolver esta problemática.

Una de las causas que contribuyen a acentuar los procesos de transporte de los plaguicidas que se aplican al suelo está relacionada con la forma en la que dichos plaguicidas son aplicados. La gran mayoría de las formulaciones de plaguicidas comerciales contienen la materia activa en una forma inmediatamente disponible para la planta a combatir y que, por lo tanto, también es susceptible de transportarse rápidamente por procesos de lixiviación y escorrentía (Johnson y Pepperman, 1998; Celis et al., 2002a). Esto hace que puedan producirse grandes pérdidas de plaguicida, acrecentadas si tras la aplicación del producto ocurren abundantes lluvias, antes de que éste tenga tiempo de difundir a través de los agregados del suelo y llegar a los sitios de adsorción de los componentes orgánicos y minerales (Pignatello y Xing, 1996; Cox et al., 2000a). El hecho de que los herbicidas se apliquen a dosis considerablemente superiores a las estrictamente necesarias para el control de las malas hierbas se debe precisamente a las grandes pérdidas de agroquímico que se producen cuando éste se aplica en una forma inmediatamente disponible y estas cantidades añadidas en exceso suponen un incremento del riesgo de contaminación de las aguas superficiales y subterráneas (Gerstl et al., 1998a,b; Lagaly, 2001).

A fin de reducir la incidencia de los procesos de transporte que dan lugar a pérdidas de eficacia y contaminación de aguas por parte de los herbicidas utilizados en agricultura se han propuesto diferentes estrategias. Hoy día, las técnicas de

control empleadas pueden actuar a dos niveles: el primero, en la corrección de aguas y suelos contaminados mediante el empleo de técnicas de limpieza y descontaminación, y en segundo lugar, la utilización de técnicas de prevención mediante el uso de materiales que incidan sobre los procesos de transporte, desarrollados en el apartado I.3.1., que causan los problemas de contaminación de plaguicidas tanto puntual como difusa. Dentro de este último grupo, caben destacar el empleo de cubiertas vegetales para reducir el arrastre superficial (Krutz et al., 2005), actuar sobre los formulados o formas de aplicación del plaguicida mediante el uso de formulaciones de liberación controlada (Carrizosa et al., 2000; Lagaly, 2001; Trigo et al., 2009) y finalmente, y la que nos ocupa, la adición de enmiendas orgánicas y/o inorgánicas para aumentar la capacidad de retención de los suelos.

Dentro de este contexto, entre las técnicas de prevención, la adición de **enmiendas orgánicas** ha sido un método para minimizar la contaminación por plaguicidas incidiendo fundamentalmente en los factores que afectan a la movilidad de herbicidas. La adición de enmiendas orgánicas a los suelos agrícolas es una práctica recomendada para mejorar las propiedades físicas y químicas de los suelos, como por ejemplo el aumento de su contenido en materia orgánica (Alburquerque et al., 2004). Este efecto es especialmente beneficioso en los suelos de Andalucía, que se caracterizan por tener un bajo contenido en materia orgánica. Como efecto colateral, y en el marco contextual de esta Tesis Doctoral, la aplicación de enmiendas orgánicas a los suelos puede reducir la cantidad de plaguicida disponible minimizando el transporte de éstos, reduciendo el riesgo de contaminación de aguas subterráneas por lixiviación y de aguas superficiales por escorrentía (Cox et al., 1997b). Este efecto amortiguador sobre la lixiviación, se consigue por el aumento de la adsorción de los plaguicidas a la materia orgánica del suelo, como consecuencia del aumento de materia orgánica proporcionado por la enmienda (Cox et al., 1999b; Fernandes et al., 2003). El aumento de la adsorción de los plaguicidas al suelo, como se ha descrito anteriormente, también protege a estos compuestos de procesos degradativos (Cox et al., 1997b). Numerosos autores han propuesto el uso de determinadas enmiendas orgánicas para prevenir la contaminación de suelos, sedimentos y acuíferos (Guo et al., 1993; Arienzo et al., 1994; Barriuso et al., 1997; Cox et al., 1997c y 1999b; Romero et al., 2006). En este

trabajo nos hemos centrado en el uso de residuos procedentes de la extracción de aceite de oliva o comúnmente denominado **alperujo** por ser un residuo de una de las mayores actividades agroalimentarias en Andalucía. No obstante, un aspecto negativo derivado de la aplicación de enmiendas orgánicas recae en el hecho de no ser siempre garantía del control y disminución del transporte de plaguicidas, especialmente de aquellos que son compuestos muy solubles en agua o cuya degradación es dependiente del pH (Worrall et al., 2001).

Por otro lado, son varias las áreas científicas implicadas en el estudio de los **minerales de la arcilla**, basándose en las peculiaridades de sus estructuras, que abarcan tanto disciplinas básicas como aplicadas (Carretero y Pozo, 2007). Algunas de estas actividades relacionadas con el uso de los minerales de la arcilla se recogen en la Figura I.16.

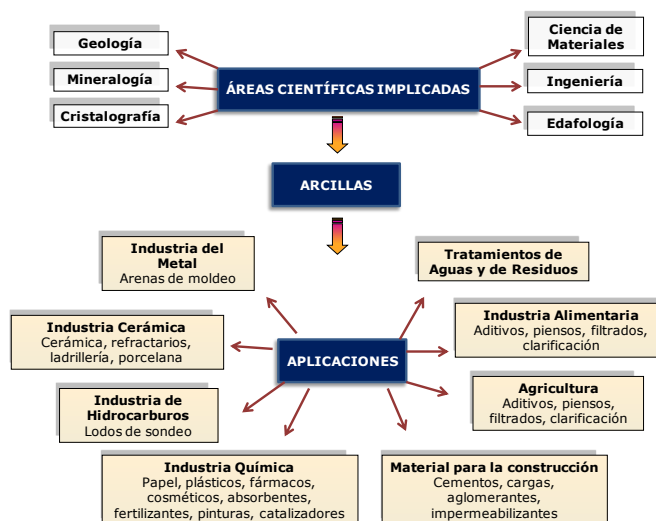


Figura I.16. Algunos de campos científicos y aplicaciones de los minerales de la arcilla (adaptado de Carretero y Pozo, 2007).

Destacan entre estas diversas aplicaciones, aquellas que provienen de las interacciones de los minerales de la arcilla con compuestos orgánicos, dando lugar a un nuevo tipo de materiales que en la últimas décadas ha ido adquiriendo mayor interés por la comunidad científica en campos muy diversos (Lagaly, 1981; Breen,

1999; Alexandre y Dubois, 2000; Prost y Yaron, 2001; Sanchez et al., 2005). Son los denominados *compuestos híbridos* que fusionan las propiedades de ambas naturalezas, siendo numerosas las publicaciones recientes que compendian métodos de síntesis de este tipo de compuestos y sus múltiples aplicaciones en diversos ámbitos como son: la óptica, microelectrónica, transporte, salud, energía y medioambiente (de Paiva et al., 2008; Ruiz-Hitzky et al., 2011; Sanchez et al., 2011; Celis et al., 2012). Estos trabajos intentan dar nuevos enfoques en este terreno, dirigidos al control de la morfología de estos compuestos, desde las escalas nano a las escalas micrométricas, para encontrar nuevas funcionalidades, optimizar las propiedades actuales y encontrar nuevos materiales híbridos (Sanchez et al., 2011).

Por sus propiedades adsorbentes, los minerales de la arcilla, inalterados o sometidos a diferentes procedimientos de modificación, se han utilizado en diversas aplicaciones relacionadas con el control de la contaminación por plaguicidas. Entre ellas, cabe destacar su uso como: 1) adsorbentes o filtros para la depuración de aguas, 2) soportes en el diseño de formulaciones de plaguicidas para una liberación controlada de los mismos y 3) barreras inmovilizantes para prevenir la contaminación por plaguicidas tanto de aguas superficiales y subterráneas como de suelos.

En los próximos apartados se describe más detalladamente las características de los dos grupos de materiales objeto de esta tesis doctoral (minerales de la arcilla y alperujo) y sus posibles aplicaciones como adsorbentes de plaguicidas para el control de la contaminación por estos compuestos.

I.4.1. Minerales de la arcilla

Los minerales de la arcillas, integrantes del grupo textural denominado arcillas, son materias primas de gran importancia por su versatilidad, abundancia e inocuidad para el medio ambiente, lo que les ha convertido en uno de los grupos de materiales más importantes del siglo XXI (Bergaya y Lagaly, 2006).

La mayoría de los minerales de la arcilla son silicatos hidratados que pertenecen al grupo de los filosilicatos, aunque pueden coexistir con otras fases minerales o amorfas (óxidos e hidróxidos: gibbsita, hematites, etc...). Nosotros para el desarrollo de esta Tesis Doctoral nos centraremos en este tipo de compuestos, los **filosilicatos**, tanto por sus características intrínsecas como por sus características derivadas por la modificación en su composición, que les confieren propiedades interesantes, como son: alta superficie específica, pequeño tamaño de partícula, expansión de su superficie, etc. (Mortland, 1970; Breen, 1999; Johnston, 2010), que favorecen su uso como adsorbentes, siendo la adsorción el factor que determine las relaciones entre éstos y los plaguicidas (Laird et al., 1992; Brixie y Boyd, 1994; Lagaly, 2001; Cornejo et al., 2008a).

I.4.1.1. Filosilicatos: Descripción, estructura y propiedades

Los filosilicatos son silicatos laminares naturales cuya estructura se puede derivar de la unión de unidades tetraédricas Si-O y unidades octaédricas Al-(O, OH) ó Mg-(O, OH). La estructura global del mineral está originada por el apilamiento de láminas tridimensionales, a su vez formadas a partir de la condensación de capas bidimensionales de tetraedros con capas bidimensionales de octaedros. Estas estructuras laminares tridimensionales pueden ser de dos tipos (Fig. I.17):

Minerales 1:1: Cada lámina se forma por la condensación de una capa tetraédrica y otra octaédrica. Las láminas se unen entre sí por puentes de hidrógeno OH-O de capas adyacentes.

Minerales 2:1: Cada lámina está constituida por una capa octaédrica situada entre dos capas tetraédricas de forma que la unión entre láminas tiene lugar a través de fuerzas de van der Waals entre átomos de O de capas adyacentes. Estas láminas pueden ser eléctricamente neutras, pero en la mayoría de los casos poseen una carga negativa permanente. El origen de esta carga está en las sustituciones isomórficas de cationes como el Si^{4+} de las capas tetraédricas por otros cationes de un tamaño parecido pero de inferior carga, como por ejemplo el Al^{3+} . También se pueden dar sustituciones en la capa octaédrica, como por ejemplo de Al^{3+} por Mg^{2+} . Además, en medio ácido pueden existir sitios con carga positiva que se atribuyen a grupos hidroxilos básicos protonados de los bordes de las capas octaédricas. Las sustituciones isomórficas son más numerosas y variadas en el caso de los minerales del tipo 2:1. Por ello, los minerales del tipo 2:1 se clasifican en grupos atendiendo a la carga negativa permanente de las láminas (Tabla I.3). El contenido de K^+ (no intercambiable) en el espacio interlaminar del mineral aumenta siguiendo el orden: esmectitas < vermiculitas < illitas < micas, por ello las esmectitas son las que tienen mayor capacidad de intercambio catiónico y de expansibilidad de sus láminas por hidratación de sus cationes intercambiables.

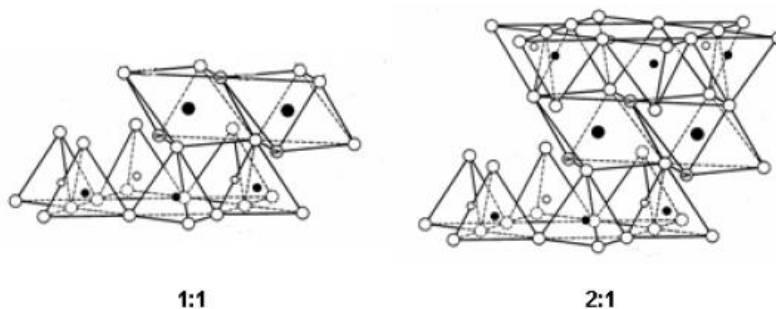


Figura I.17. Estructura de los filosilicatos 1:1 y 2:1.

Cada grupo de los minerales 2:1 se puede subdividir en dos subgrupos: minerales dioctaédricos, si las posiciones octaédricas están ocupadas por Al, y minerales trioctaédricos, si lo están por Mg.

En los minerales con carga laminar distinta de cero, la carga negativa está compensada por *cationes inorgánicos* más o menos hidratados que se sitúan entre las láminas del mineral y en los bordes, pudiendo ser cambiables o no cambiables. Las propiedades fisicoquímicas de estos minerales están determinadas por la carga laminar y la naturaleza química de los cationes interlaminares.

En el caso de las esmectitas, el espacio interlaminar está ocupado por cationes de cambio más o menos hidratados. La hidratación de los cationes trae consigo el aumento de la *distancia de separación entre las láminas*. La separación de las láminas tiene importantes repercusiones desde el punto de vista de la capacidad adsorbente de estos minerales, ya que da lugar a un aumento de la superficie accesible para la adsorción de moléculas orgánicas polares e iónicas (Lagaly, 1994).

Existe un grupo (2:1:1) con una estructura similar a la de los minerales del tipo 2:1, al cual pertenecen las cloritas, en el que el balance de carga se mantiene por la presencia, en el espacio interlaminar, de grupos hidroxilos coordinados octaédricamente, similares a las capas octaédricas. Por tanto, su capacidad de intercambio catiónico es nula, al igual que su capacidad de hinchamiento (Karathanasis et al., 1983; Ezzaim et al., 1999).

La Tabla I.3 muestra una clasificación de los filosilicatos junto con algunas de las principales especies minerales (Brown y Nadeau, 1984; Martin et al., 1991; Stephen, 1995).

Tabla I.3. Clasificación de los filosilicatos y algunas especies minerales.

TIPO	Grupo (x ^a)	Subgrupo	Algunas especies minerales; Fórmula Ideal.
1:1	Caolinitas-serpentinatas x ~ 0	Caolinitas	<u>Diquita</u> : Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄
			<u>Haloisita</u> : Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄ · 2H ₂ O
			<u>Metahaloisita</u> : Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄
			<u>Caolinita</u> : Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄
			<u>Nacrita</u> : Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄
			<u>Anauxita</u> : Al ₂ Si ₃ O ₇ (OH) ₄
		Serpentinatas	<u>Crisotilo</u> : Mg ₃ Si ₂ O ₅ (OH) ₄
			<u>Antigorita</u> : Mg ₃ Si ₂ O ₅ (OH) ₄
			<u>Amesita</u> : Mg ₂ Al(SiAl) ₂ O ₅ (OH) ₄
			<u>Bertierina</u> : (Fe ^{II} , Fe ^{III} , Al, Mg) ₂₋₃ (SiAl) ₂ O ₅ (OH) ₄
2:1	Pirofilita-talco x ~ 0	Pirofilita	<u>Pirofilita</u> : Al ₂ Si ₄ O ₁₀ (OH) ₂ <u>Ferripirofilita</u> : Fe ^{III} ₂ Si ₄ O ₁₀ (OH) ₂
		Talco	<u>Talco</u> : Mg ₃ Si ₄ O ₁₀ (OH) ₂ <u>Minnesotaita</u> : (Fe ^{II} , Mg) ₂ Si ₄ O ₁₀ (OH) ₂
			<u>Montmorillonita</u> : 0.33M ⁺ ·(Al _{1.67} Mg _{0.33})Si ₄ O ₁₀ (OH) ₂
		Esmectitas x ~ 0.2-0.6	<u>Beidelita</u> : 0.33M ⁺ ·Al ₂ (Si _{3.67} Mg _{0.33})O ₁₀ (OH) ₂
			<u>Nontronita</u> : 0.33M ⁺ ·Fe ^{III} ₂ (Si _{3.67} Mg _{0.33})O ₁₀ (OH) ₂
			<u>Volkonskoita</u> : 0.33M ⁺ ·(Fe ^{III} , Cr ^{III} , Mg) ₂ (Si, Al) ₄ O ₁₀ (OH) ₂
			<u>Saponita</u> : 0.33M ⁺ ·(Mg, Fe ^{II}) ₃ (Si _{3.67} Al _{0.33})O ₁₀ (OH) ₂
			<u>Sauconita</u> : 0.33M ⁺ ·Zn ₃ (Si _{3.67} Al _{0.33})O ₁₀ (OH) ₂
			<u>Hectorita</u> : 0.33M ⁺ ·(Mg, Li) ₃ Si ₄ O ₁₀ (OH) ₂
	Vermiculitas x ~ 0.6-0.9	Diocetaédricas	<u>Vermiculita diocetaédrica</u> : 0.67M ⁺ ·(Al, Fe ^{III} , etc.) ₂ (Si, Al) ₄ O ₁₀ (OH) ₂
		Triocetaédricas	<u>Vermiculita</u> : 0.67M ⁺ ·(Mg, Fe ^{II} , etc.) ₃ (Si, Al) ₄ O ₁₀ (OH) ₂
	Micas-ilitas x ~ 1	Diocetaédricas	<u>Moscovita</u> : KAl ₂ (Si ₃ Al)O ₁₀ (OH) ₂
			<u>Paragonita</u> : NaAl ₂ (Si ₃ Al)O ₁₀ (OH) ₂
			<u>Ilita</u> : (K, H ₃ O) (Al, Mg, Fe ^{II}) ₂ (Si, Al) ₄ O ₁₀ (OH) ₂
			<u>Glaucónita</u> : (K, Na)(Fe ^{III} , Al, Mg) ₂ (Si, Al) ₄ O ₁₀ (OH) ₂
		Triocetaédricas	<u>Flogopita</u> : KMg ₃ (Si ₃ Al)O ₁₀ (OH, F) ₂
			<u>Biotita</u> : K(Mg, Fe ^{II}) ₃ (Si ₃ Al)O ₁₀ (OH, F) ₂ <u>Lepidolita</u> : K(Li, Al) ₃ (Si, Al) ₄ O ₁₀ (OH, F) ₂
	Micas frágiles x ~ 2	Diocetaédricas	<u>Margarita</u> : CaAl ₂ (Si ₂ Al ₂)O ₁₀ (OH) ₂
		Triocetaédricas	<u>Clintonita</u> : Ca(Mg, Al) ₃ (SiAl ₃)O ₁₀ (OH) ₂
2:1:1	Cloritas x variable	Diocetaédricas	<u>Sudoita</u> : Mg ₂ (Al, Fe ^{III}) ₃ Si ₃ AlO ₁₀ (OH) ₈
		Triocetaédricas	<u>Clinocloro</u> : (Mg, Fe ^{II}) ₅ Al(Si ₃ Al)O ₁₀ (OH) ₈
			<u>Nimita</u> : (Ni, Mg, Fe ^{II}) ₅ Al(Si ₃ Al)O ₁₀ (OH) ₈
2:1 (fibrosos)	Hormitas x variable	Mixoditriocetaédricas	<u>Paligorskita</u> : (Al, Mg) ₂ Si ₄ O ₁₀ (OH) · 4H ₂ O
		Triocetaédricas	<u>Sepiolita</u> : Mg ₄ Si ₆ O ₁₅ (OH) ₂ · 6H ₂ O

^ax= carga eléctrica por fórmula ideal

I.4.1.2. Las esmectitas como adsorbentes de plaguicidas

Como se ha desarrollado hasta ahora, debido a sus características estructurales, los filosilicatos y concretamente las esmectitas con superficies internas accesible y expandibles, presentan muy buenas propiedades adsorbentes para diversos contaminantes. Las esmectitas poseen una estructura laminar con una carga negativa permanente entre 0.5 y 1 por cada celda, que es compensada por cationes interlaminares que le confieren una amplia variedad de sitios de adsorción, tanto en sus superficies externas como en el espacio interlaminar (Lagaly, 1994). Los centros activos de las esmectitas, para interaccionar con moléculas o iones orgánicos e inorgánicos, son determinados puntos estructurales (Fig. I.18):

1. *Cationes de cambio hidratados en la interlámina y en los bordes del mineral.* Los sitios donde se localiza la carga, procedente de las sustituciones isomórficas, están compensados por cationes de cambio que se asocian a moléculas de agua y tienen un fuerte carácter hidrofílico.

2. *Grupos silanoles y aluminos de los bordes de ruptura.* Originados por la ruptura de los enlaces Si-O-Si y Al-O-Si (Cerezo et al., 2003). Se convierten en sitios de carga variable según el pH del medio.

3. *Grupos siloxano laminares de los planos basales.* Estas zonas de la superficie de los planos basales externos o interlaminares comprendidos entre sitios cargados tienen carácter hidrófobo (Jaynes y Boyd, 1991a).

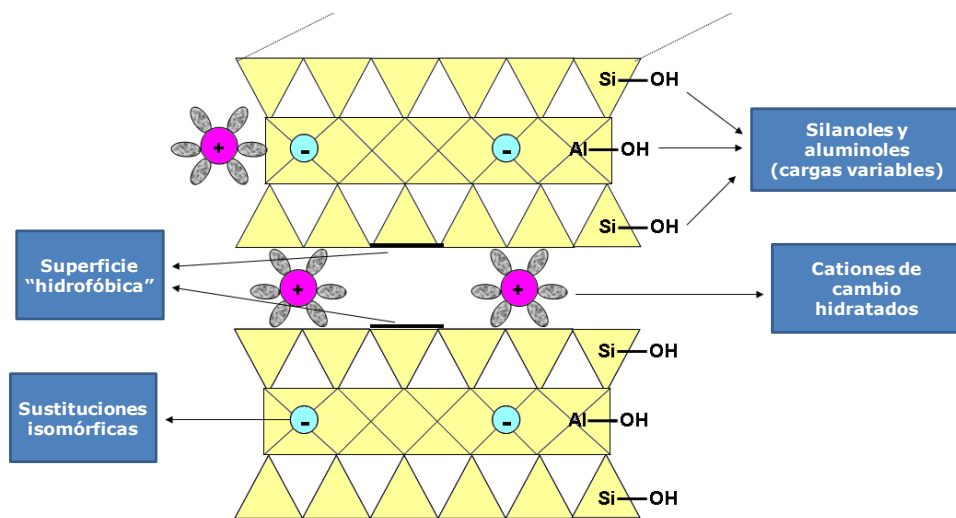


Figura I.18. Centros activos de un mineral esmectítico en relación con la adsorción de plaguicidas.

Los mecanismos de interacción con los plaguicidas dependen en gran medida de las características de carga del plaguicida:

1. Plaguicidas catiónicos y protonables. Los plaguicidas catiónicos son adsorbidos rápidamente por las esmectitas mediante procesos de intercambio iónico. La adsorción y desorción de estos plaguicidas siguen los patrones de las interacciones electrostáticas entre los cationes y las cargas superficiales del mineral de la arcilla (Philen et al., 1971).

2. Plaguicidas aniónicos y ácidos débiles. Los compuestos aniónicos son repelidos por las superficies basales con carga negativa de las esmectitas, dando como resultado una adsorción muy pequeña o nula (Celis et al., 1999c). En el mineral de la arcilla existen sitios de adsorción para los plaguicidas aniónicos, aunque no son muy numerosos. Pueden unirse a los bordes cargados positivamente (si el pH es inferior a 5), mediante puentes de hidrógeno, a metales polivalentes en los sitios de intercambio o, con las condiciones apropiadas, mediante la dominancia de la atracción por fuerzas de van der Waals (Lagaly, 2001).

3. Plaguicidas neutros: Hidrófobos o Polares. Los compuestos orgánicos hidrófobos no tienen una alta afinidad por las esmectitas, debido al ambiente hidrofílico de la superficie del mineral creado por los cationes hidratados interlaminares (Jaynes y Vance, 1996). Las fuerzas de van der Waals son más fuertes cuando el plaguicida puede aproximarse a los átomos de oxígeno de la superficie de siloxano del mineral (regiones “hidrofóbicas”).

Los plaguicidas con grupos funcionales polares (-OH, =O, -NH₂, -NO₂) son retenidos mediante fuerzas electrostáticas (ion-dipolo) o enlaces de coordinación. Los enlaces de coordinación se forman directamente entre las esmectitas y el adsorbato o a través de moléculas de agua que actúan como ligandos puentes, según el carácter fuerte-débil de ambos constituyentes de la interacción. En todos los casos, los enlaces por puentes de hidrógeno juegan un papel fundamental. Estos enlaces pueden darse con los grupos OH de los bordes del mineral y también con los átomos de oxígeno de la superficie de siloxano.

I.4.1.2.1. Reacciones de modificación de las esmectitas

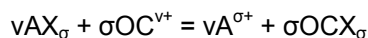
Por sus características de carga, las esmectitas son buenos adsorbentes de cationes y moléculas polares inorgánicas y orgánicas. Sin embargo, debido a la fuerte hidratación de los cationes intercambiables inorgánicos, que confieren propiedades hidrofílicas a su superficie, su capacidad de adsorción de compuestos orgánicos hidrófobos se ve considerablemente reducida (Jaynes y Vance, 1996). Algo similar ocurre con los compuestos aniónicos, que son repelidos por las superficies basales con carga negativa, dando como resultado una adsorción muy pequeña o nula (Celis et al., 1999c).

La modificación de las propiedades superficiales de las esmectitas mediante la sustitución de los cationes inorgánicos naturales de su espacio interlaminar por cationes orgánicos puede mejorar las propiedades adsorbentes del mineral para compuestos no iónicos hidrofóbicos y compuestos ácidos (Lagaly, 2001; Cornejo et al., 2004).

Las arcillas orgánicas u organoarcillas son filosilicatos de tipo expandibles modificados mediante la sustitución de sus cationes interlaminares inorgánicos por cationes orgánicos. En general, la entrada de cationes orgánicos en el espacio interlaminar de las esmectitas puede seguir *mecanismos* de naturaleza diferente, siendo los principales las reacciones de intercambio catiónico y la adsorción física.

1. Reacciones de intercambio catiónico.

Ocurren mediante interacciones electrostáticas entre la superficie cargada negativamente del mineral de la arcilla y las cargas positivas de los cationes orgánicos que se introducen en él. La reacción de intercambio catiónico sigue la forma:



donde $A^{\sigma+}$ es el catión inorgánico cambiante, σ la valencia de este catión, OC^{v+} el catión orgánico y v su valencia, y X^{-} determina un sitio de cambio de la superficie del mineral de la arcilla. Por lo general, esta reacción se lleva a cabo por la adición de una disolución acuosa del catión orgánico a una suspensión de la arcilla. Las reacciones de cambio iónico están influenciadas por parámetros importantes como el tipo de filosilicato y su carga superficial (Xu y Harsh, 1990, 1992), la naturaleza del catión inorgánico intercambiado, las condiciones de la disolución y la estructura del catión orgánico (Lee et al., 2002), tanto en lo que respecta a la longitud de las cadenas alquílicas laterales como a la accesibilidad del grupo catiónico. Así, en el caso de cationes alquilamonio, la accesibilidad del grupo que porta la carga positiva determina la solvatación por moléculas de agua, que atenúa la interacción entre éstos y la superficie de la arcilla. Por ello, los alquilamonios cuaternarios son los más fuertemente adsorbidos directamente por interacciones con las superficies cargadas de la arcilla (Aue et al., 1976).

2. Adsorción física.

Ocurre mediante interacciones hidrofóbicas que se dan por un lado, entre las regiones hidrofóbicas del catión orgánico y las zonas menos hidrofílicas de la arcilla, como la superficie de siloxanos, y por otro, entre los cationes orgánicos entre sí, lo que explica la posible entrada de cationes orgánicos al espacio interlaminar por encima de la capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) de la arcilla. En este caso, la naturaleza del enlace hidrofóbico es una combinación de la atracción de los grupos hidrofóbicos de los cationes orgánicos entre sí y su tendencia a ser repelidos por el agua (Rosen, 1987). El tamaño de las moléculas es un factor importante en la adsorción, de forma que cuanto mayor es el peso molecular del compuesto, las moléculas son más fuertemente adsorbidas, por poseer un mayor número de puntos de contacto con la superficie del mineral (Greenland, 1965). La energía de adsorción de estas moléculas llega a ser incluso superior a la del agua, a la que pueden desplazar del espacio interlaminar. El mecanismo de adsorción condiciona en gran medida las características de las organoarcillas resultantes (Xu y Boyd, 1995) así como su estabilidad, afectando a tres aspectos principalmente: la cantidad de catión orgánico adsorbido, el grado de desorción del catión orgánico y la resistencia de éste a ser degradado. La adsorción de surfactantes catiónicos de gran tamaño en el espacio interlaminar de las esmectitas es muy irreversible (Zhang et al., 1993; Moronta, 2004).

Los cationes orgánicos que más se han utilizado en la preparación de las organoarcillas son los *iones alquilamonios cuaternarios* de gran tamaño, de fórmula general $[(CH_3)_n NR_{4-n}]^+$, donde R es un hidrocarburo aromático o alifático (Carrizosa et al., 2001). Dependiendo de la densidad de carga laminar y del tamaño de los radicales, los cationes orgánicos pueden adoptar distintas configuraciones en la interlámina: monocapa, bicapa, pseudotrimolecular o parafínica (Jaynes y Vance, 1996) (Fig. I.19). La técnica de difracción de rayos X permite la determinación de la disposición del catión orgánico en la interlámina, e incluso, recientemente, se ha avanzado en la caracterización de estas estructuras a partir de su visualización por medio de la técnica de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de alta resolución (Fig. I.20).

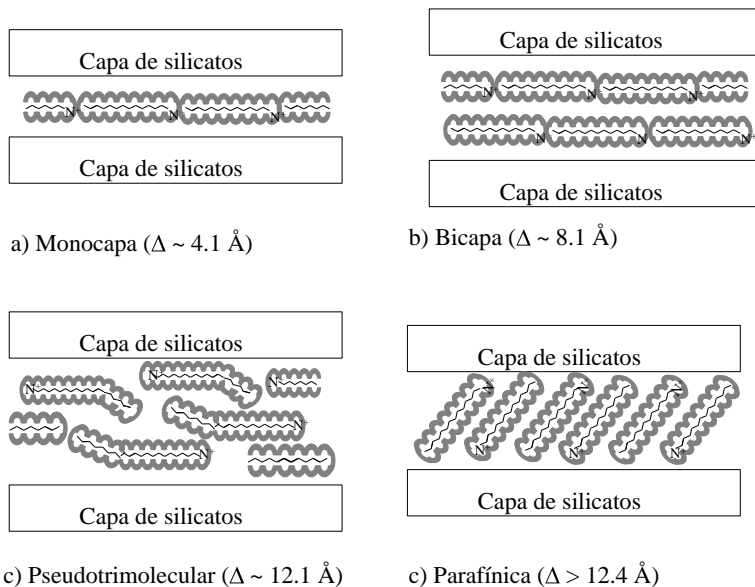


Figura 1.19. Posibles disposiciones de los cationes orgánicos de cadena larga en el espacio interlaminar de las organoarcillas y magnitud de la distancia interlaminar. Δ representa la amplitud del espacio interlaminar

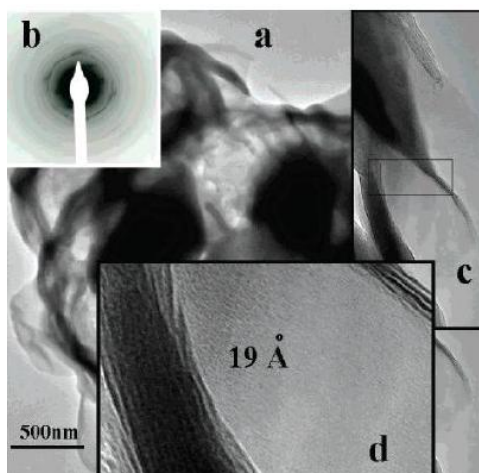


Figura 1.20. Imágenes de una muestra de montmorillonita de Wyoming (SWy-1) saturada con cationes hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) tomadas por microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (Yaron-Marcovich et al., 2005).

I.4.1.2.2. Interacciones de plaguicidas con esmectitas modificadas con cationes orgánicos

Debido al carácter hidrofílico y a su carga superficial negativa, los minerales de la arcilla, y en concreto los filosilicatos esmectíticos, han demostrado ser buenos adsorbentes de plaguicidas catiónicos y muy polares, pero su capacidad adsorbente para plaguicidas poco solubles o no iónicos es normalmente baja. La fuerte hidratación de los cationes inorgánicos de cambio naturales de los silicatos laminares da lugar a un ambiente hidrofílico en la superficie del mineral de la arcilla que reduce considerablemente la capacidad adsorbente de las arcillas para compuestos hidrofóbicos. El desplazamiento de estos cationes intercambiables por cationes orgánicos mediante reacciones de intercambio iónico consigue modificar la naturaleza de la superficie del mineral de la arcilla, de hidrofílica a hidrofóbica.

Como ya se ha mencionado, los cationes orgánicos más utilizados para la modificación de los minerales de la arcilla son los iones alquilamonio cuaternarios, de fórmula general $[(CH_3)_n NR_{4-n}]^+$, donde R es un hidrocarburo aromático o alifático (Mortland et al., 1986; Boyd et al., 1988; Redding et al., 2002; Bonczek et al., 2002). Según Boyd et al. (1991), las organoarcillas con este tipo de cationes orgánicos pueden dividirse en dos clases con distintas características adsorbentes dependiendo del tamaño del catión interlaminar introducido:

1. La incorporación de cationes alquilamonio de *gran tamaño*, tales como el octadecilamonio (ODA), dioctadecildimetilamonio (DODA) y hexadeciltrimetilamonio (HDTMA), en las interláminas de las arcillas esmectíticas da lugar a organoarcillas con una elevada afinidad por plaguicidas neutros (Aguer et al., 2000) e incluso por plaguicidas ácidos (Celis et al., 1999c; Carrizosa et al., 2000, 2001). Son las llamadas *organoarcillas organofílicas* (Fig. I.21). En ellas, los grandes cationes alquilamonios se fijan a la superficie de la arcilla e interaccionan entre sí, formando una fase hidrofóbica que actúa como un medio de partición para compuestos orgánicos no iónicos y elimina eficazmente tales compuestos del agua (Jaynes y Vance, 1996).

2. Las características adsorbentes de las organoarcillas formadas a partir de *pequeños cationes amonio cuaternarios*, tales como el tetrametilamonio, son diferentes, ya que los pequeños cationes orgánicos existen como especies discretas en la superficie del mineral de la arcilla, sin formar una fase de partición orgánica (Brixie y Boyd, 1994). En estas organoarcillas, llamadas *adsortivas* (Fig. I.21), los cationes orgánicos actúan como pilares no hidratados que expanden las láminas de la arcilla, haciendo más accesible la abundante área superficial de siloxano (Brixie y Boyd, 1994).

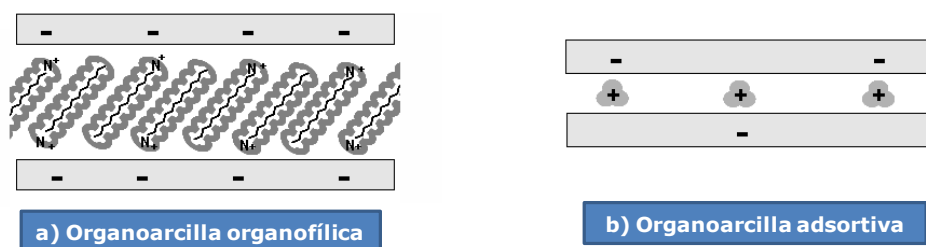


Figura I.21. Organoarcillas a) organofílicas y b) adsortivas.

Además del tamaño de las cadenas de hidrocarburos, la carga superficial del mineral de la arcilla y la cantidad de catión orgánico en la interlámina son factores determinantes de las propiedades adsorbentes de las arcillas intercambiadas con alquilamonios, ya que estos parámetros determinan la disposición del catión orgánico en el espacio interlaminar del mineral de la arcilla y, por tanto, el espacio disponible para las moléculas de plaguicidas a albergar (Jaynes y Boyd, 1991b; Jaynes y Vance, 1996; Celis et al., 1999a, 2000). La modificación selectiva de minerales de la arcilla con cationes orgánicos que contienen grupos funcionales apropiados para aumentar la afinidad del adsorbente por el plaguicida constituye una nueva línea de investigación (Fig. I.22). A pesar de que este concepto ha sido aplicado para desarrollar organoarcillas con elevada afinidad y selectividad por metales pesados, existe poca información acerca de cómo cationes orgánicos con diferentes grupos funcionales influyen en la adsorción de plaguicidas por las organoarcillas. Nir et al. (2000) señalaron la importancia de la compatibilidad

estructural entre la molécula del plaguicida y el catión alquilamonio preadsorbido en el mineral de la arcilla en el rendimiento de las organoarcillas como adsorbentes de plaguicidas. Alacloro y metolacloro contienen un anillo bencénico en su estructura y muestran una gran afinidad por montmorillonitas modificadas con cationes orgánicos que poseen anillos bencénicos, tales como benciltrimetilamonio o feniltrimetilamonio.

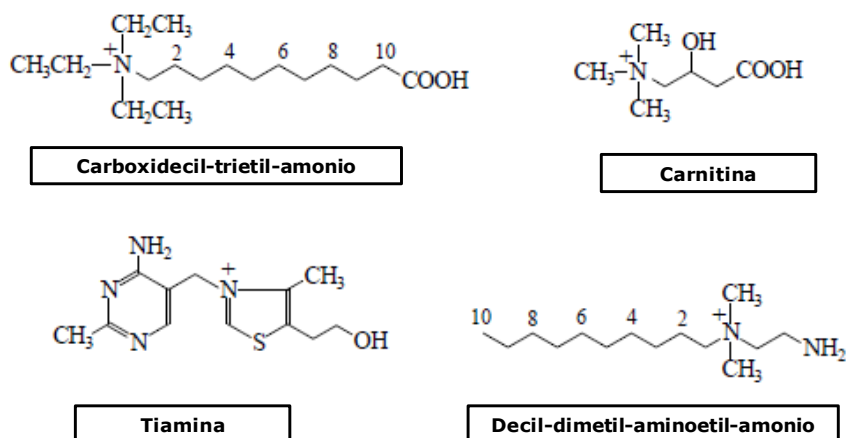


Figura I.22. Algunos cationes orgánicos funcionalizados utilizados para la preparación de organoarcillas.

Cruz-Guzmán et al. (2004, 2005) encontraron que cationes orgánicos naturales con grupos funcionales polares apropiados permitían la modificación selectiva de minerales de la arcilla para optimizar su afinidad por determinados plaguicidas. Usando los cationes L-carnitina, éster dimetilico de la L-cistina y tiamina como cationes modificadores, los autores demostraron que la naturaleza química del catión orgánico influía en gran medida en la adsorción del herbicida simazina por las arcillas modificadas (Fig. I.23), probablemente a través de una combinación de efectos de funcionalidad y efectos estéricos (Cruz-Guzmán et al., 2004). Por ello, sugieren la posibilidad de modificar las superficies de los minerales de la arcilla con cationes orgánicos con grupos funcionales apropiados para crear un microambiente en la interlámina diseñado para mejorar la afinidad del mineral de la arcilla por los

plaguicidas. Celis et al. (2007) utilizaron este mismo concepto para desarrollar organoarcillas con afinidad por tres de los herbicidas más utilizados en olivares mediterráneos (terbutilazina, diurón, y MCPA) y que había provocado problemas de contaminación de reservas de agua en los últimos años.

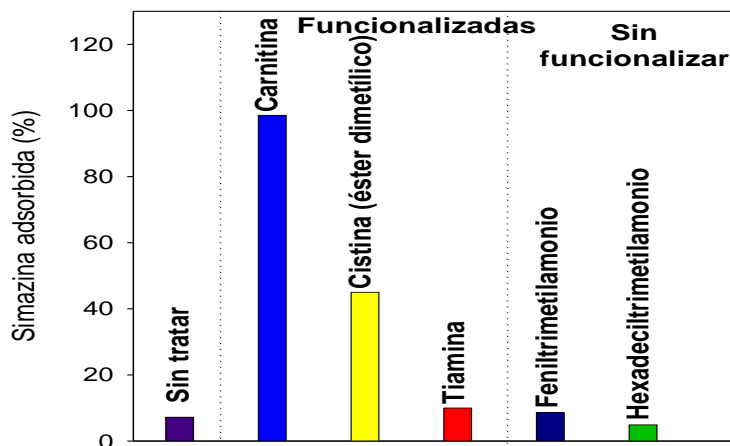


Figura I.23. Porcentaje de herbicida simazina adsorbido por montmorillonita sin tratar (SWy-2) y montmorillonita modificada con diferentes cationes orgánicos. La concentración inicial de herbicida fue de 1 mg/l.

I.4.1.3. Aplicaciones

Los problemas medioambientales derivados del uso de plaguicidas, en particular de plaguicidas con una elevada movilidad, se ha convertido en un tema de actualidad debido al aumento de la presencia de estos compuestos en aguas superficiales y subterráneas. Para compensar las pérdidas por transporte y degradación y asegurar un control adecuado de plagas y enfermedades, los plaguicidas son aplicados a concentraciones superiores a las estrictamente requeridas para el control de la plaga a combatir, hecho que incrementa la probabilidad de escorrentía y lixiviación aumentando el riesgo de contaminación de aguas superficiales y subterráneas (Gerstl et al., 1998a,b). Este problema es más acuciado para plaguicidas con una elevada solubilidad en agua, debido al enorme riesgo de transporte hasta zonas lejanas del lugar de aplicación, ya que el plaguicida

se disuelve rápidamente en la solución del suelo (Carrizosa et al., 2001) hasta alcanzar lugares indeseados.

En definitiva, como se ha plasmado hasta el momento, la problemática medioambiental derivada del uso de plaguicidas, especialmente aquellos que son muy móviles, en la contaminación de suelos y aguas superficiales y subterráneas, hace necesario el desarrollo de estrategias para combatir esta situación. Por otra parte, es fundamental el papel que juegan los componentes del suelo como son los minerales de la arcilla y en concreto, los tipos de interacciones entre las esmectitas y esmectitas modificadas con cationes orgánicos (organoarcillas) para incrementar la afinidad por compuestos orgánicos y concretamente plaguicidas.

En este escenario, a continuación se exponen, las diversas aplicaciones recogidas para las esmectitas y organoarcillas como: 1) adsorbentes o filtros para depuración de aguas, 2) soportes o formulaciones de plaguicidas para la liberación controlada de los mismos y 3) como barreras inmovilizantes de plaguicidas en suelos.

I.4.1.3.1. Adsorbentes para depuración de aguas

Esta línea de aplicación que concierne a las esmectitas tanto inalteradas como modificadas con cationes orgánicos se encuadra dentro del ámbito de la remediación de ecosistemas acuáticos contaminados y ha sido uno de los primeros campos de investigación de este tipo de compuestos, siendo numerosos los trabajos que se recogen en la bibliografía apoyándose en las publicaciones que han recogido la presencia de plaguicidas de uso agrícola en aguas subterráneas (Barceló et al., 1996, Jacobsen et al., 1999; Hermosín et al., 2009).

En este sentido ha sido primordial el estudio de los factores y características que influyen en la movilidad de plaguicidas, siendo los procesos de adsorción-desorción los que juegan un papel decisivo (Wachoupe et al., 2002; Cornejo et al., 2005; Cornejo et al., 2008a; Boyd et al., 2011). Todo lo expuesto previamente al comienzo de este apartado sobre el papel de las esmectitas tanto inalteradas como

modificadas con cationes orgánicos como adsorbentes, es válido para explicar el comportamiento de éstas en la depuración de aguas contaminadas por plaguicidas. Así, existen estudios que recogen el papel adsorbente de la esmectitas para compuestos orgánicos, tanto iónicos como polares (Hermosín y Cornejo, 1992; Sánchez-Camazano, 1995; Cox et al., 1997a; Celis et al., 1999b,c) o compuestos neutros no polares (Lee et al., 1990; Sheng and Boyd, 2000; Chun et al., 2003; Shen, 2004), fenólicos (Ganigar et al., 2010), o estudios que recogen el papel de las organoarcillas en función de las características de los plaguicidas (Sánchez-Martín et al., 2006).

En definitiva, se ha hecho necesario elucidar los mecanismos de adsorción de compuestos orgánicos y, en concreto, de los plaguicidas en esmectitas y organoarcillas para predecir, comprender y maximizar las capacidades de adsorción y designar nuevas familias de organoarcillas (Sheng et al., 1996a,b) cada vez más beneficiosas. Ha sido más recientemente cuando las investigaciones han ido dirigidas a ello. Así, Li et al. (2003) observaron la influencia de diversos grupos funcionales presentes en la materia orgánica como responsables del comportamiento adsorbente de las arcillas para dos plaguicidas diferentes. Por otro lado, Groisman et al. (2004) estudiaron la adsorción de dos plaguicidas organofosforados por una organoarcilla bifuncional, que fue capaz de adsorber selectivamente los plaguicidas y catalizar su hidrólisis y así evitar la contaminación.

Finalmente, hay que hacer especial énfasis en el desarrollo de materiales que sean respetuosos con el medio ambiente y no originen problemas tóxicos una vez son incorporados al medioambiente. Tal es el caso de las organoesmectitas desarrolladas por Cruz-Guzmán et al. (2004, 2005), las cuales además de aumentar la adsorción, contenían cationes orgánicos naturales de bajo impacto ambiental. Esto ha seguido siendo una línea de investigación que han desarrollado también otros autores (Celis et al., 2007; Trigo et al., 2009; Celis et al., 2012) quienes presentan otras organoarcillas con cationes orgánicos en su interlámina con la habilidad de incrementar la adsorción por distintos tipos de herbicidas, ácidos, neutros polares y no polares.

I.4.1.3.2. Soportes en formulaciones de liberación controlada de plaguicidas

En los últimos años, el uso de constituyentes naturales del suelo tales como arcillas, óxidos de hierro o ácidos húmicos como soportes en formulaciones de plaguicidas ha suscitado un renovado interés (Margulies et al., 1994; Carr et al., 1994; Gerstl et al., 1998a; Fernández-Pérez et al., 1998; Johnson y Pepperman, 1998; González-Pradas et al., 1999; Scher, 1999; El-Nahhal et al., 2000; Lagaly, 2001; Hermosín et al., 2001; Trigo et al., 2009). Este interés surge como consecuencia de que la mayoría de las formulaciones de plaguicidas comerciales existentes en el mercado contienen el ingrediente activo en una forma inmediatamente disponible y que, por ello, es rápidamente liberado al medioambiente (Johnson y Pepperman, 1998). Para plaguicidas muy solubles, estas formulaciones dan como resultado rápidas pérdidas de plaguicida poco después de su aplicación, antes de que las moléculas tengan tiempo de difundir a través de los agregados del suelo y alcanzar los sitios de adsorción presentes en los mismos (Gish et al., 1991; Cox et al., 2000a). Para reducir las pérdidas de plaguicidas por transporte se han desarrollado formulaciones más sostenibles, tales como las formulaciones de liberación lenta (Fig. I.24), en las cuales sólo una parte del ingrediente activo se encuentra en una forma inmediatamente disponible, mientras que la mayor parte se encuentra atrapado o adsorbido sobre un soporte inerte que lo va liberando gradualmente con el tiempo (Fernández-Pérez et al., 1998).

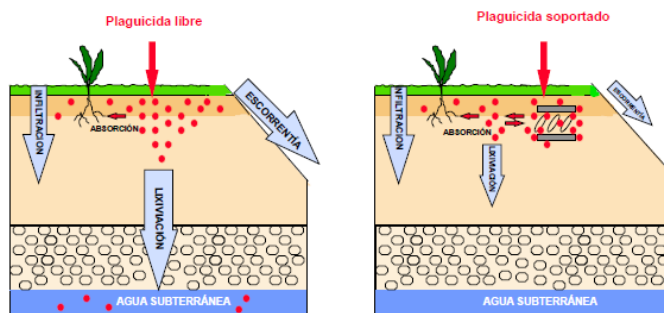


Figura I.24. Efecto del tipo de formulación en las pérdidas por transporte de los plaguicidas aplicados al suelo.

Se han propuesto diferentes tipos de formulaciones basadas en organoarcillas, particularmente arcillas intercambiadas con cationes alquilamonio (Carrizosa et al., 2000, 2001; Undabeytia et al., 2000; Lagaly, 2001; Nenneman et al., 2001; Hermosín et al., 2001; Celis et al., 2002a), pero estudios más recientes se han dirigido a diseñar nuevas formulaciones basadas en minerales de la arcilla que sean más respetuosas con el medio ambiente. Para ello el plaguicida es soportado en minerales de la arcilla modificados con cationes orgánicos naturales que causan menor impacto que los cationes tradicionalmente usados, una vez que son incorporados en ecosistemas naturales para su aplicación práctica, al mismo tiempo que incrementan la adsorción de los plaguicidas en el mineral modificado (Trigo et al., 2009; Celis et al., 2012; Undabeytia et al., 2012).

El beneficio de estas formulaciones de liberación lenta o controlada lleva consigo la reducción de la cantidad de producto químico requerido para el control de la plaga a combatir, descenso del grado de contaminación medioambiental, ahorro en la mano de obra y energía utilizada en la aplicación del pesticida por reducción del número de aplicaciones requeridas en comparación con las formulaciones convencionales, incremento de la seguridad para el manipulador del agroquímico y, en general, una disminución de los efectos colaterales (Gerstl et al., 1998a). Sin embargo, por otra parte, además de su elevado coste, un obstáculo importante observado en muchas formulaciones arcilla-plaguicida ensayadas es la alta cantidad de plaguicida no liberado de la formulación, lo que puede conllevar problemas de contaminación de suelos a largo plazo y que se requieran mayores dosis de aplicación (Celis et al., 2002b; Cornejo et al., 2004).

I.4.1.3.3. Barreras inmovilizantes de plaguicidas: uso como enmiendas agrícolas

Esta aplicación se encuadra dentro del campo de tecnologías medioambientales. Las barreras químicas se han propuesto como medio para controlar la contaminación de aguas subterráneas y pueden ser clasificadas en función del mecanismo de actuación, bien como *barreras de precipitación*, en las

que el contaminante se une a la barrera cambiando de fase, o como *barreras de adsorción* en las que los contaminantes se adhieren a la superficie de los materiales que componen la barrera (Morrison y Spangler, 1993). Estos estudios se han basado en la formación de zonas adsorptivas por adición de organoarcillas que interceptan los contaminantes orgánicos quedando inmovilizados en el horizonte más superficial de los suelos, incidiendo, por tanto, en los fenómenos de transporte que originan los episodios de contaminación. La formación de estas barreras de organoarcillas como inmovilizantes de compuestos orgánicos ha sido estudiada para evitar la contaminación de suelos (McBride et al., 1977; Boyd et al., 1988, 1991; Jaynes y Boyd, 1990, 1991b; Brixie y Boyd, 1994; El-Nahhal et al., 2000; Redding et al., 2002; Rodríguez-Cruz et al., 2007). Así, por ejemplo, Brixie y Boyd (1994) demostraron que la adición de organoarcillas a suelos contaminados por clorofenoles fue un medio efectivo para inmovilizar este tipo de compuestos con una adición al suelo del 20% de organoarcilla.

Trabajos más recientes han demostrado la efectividad de organoarcillas como barreras para retener plaguicidas. Voudrias (2002) demostró mediante modelos predictivos que el herbicida diurón y benceno redujeron su lixiviación en suelos enmendados con una bentonita modificada con HDTMA. En otro trabajo, Rodríguez-Cruz et al. (2007) realizaron estudios de lixiviación en columnas de suelo encontrando que la presencia de barreras compuestas por distintos minerales de la arcilla (montmorillonita, kaolinita, paligorskita) modificados con octadeciltrimetilamonio (ODTMA) redujeron drásticamente la lixiviación de varios plaguicidas, llegando casi a la inmovilización. En este sentido, será necesario la optimización de la organoarcilla a seleccionar en función del plaguicida a retener, teniendo en cuenta los factores descritos previamente que afectan a la adsorción de plaguicidas por organoarcillas, así como el desarrollo de nuevos materiales dirigidos a disminuir el impacto ambiental que supondrían tras su aplicación.

Hasta el momento es muy escasa la bibliografía que recoge el uso de organoarcillas como posibles enmiendas de suelos agrícolas para optimizar el comportamiento de plaguicidas, esto es, para que tras ser adicionadas a los mismos, consigan retener a los plaguicidas en los primeros centímetros de suelo

evitando pérdidas por transporte de éstos, al tiempo que permitan mantener y/o aumentar la bioeficacia del agroquímico.

Modificación “in situ” de suelos por adición de cationes orgánicos

Cuando se aplica yeso a los suelos, o alguno de sus derivados, tienen lugar una serie de procesos por los que se produce el intercambio catiónico de Na^+ de las arcillas del suelo por el Ca^{2+} procedente del yeso. Por otro lado, mediante irrigación, el Ca^{2+} adsorbido es sustituido por Na^+ procedente del agua de riego. Esta modificación “in situ” del complejo de cambio de suelos arcillosos es de gran relevancia pues las propiedades hidrofísicas del suelo se ven afectadas por la relación $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (Prost y Yaron, 2001).

Considerando estos fenómenos bien conocidos, se han buscado otras alternativas para combatir la contaminación ambiental mediante el uso de cationes orgánicos, y combinando las últimas dos aplicaciones, es decir, empleando recursos naturales como pueden ser suelos con determinadas características texturales (suelos arcillosos con alto contenido en material esmectítico) que puedan ser susceptibles de modificación mediante adición de cationes orgánicos apropiados, mejorando la retención de plaguicidas en el horizonte más superficial del suelo, implicando la formación de complejos organoarcillosos “in situ”.

En este aspecto, es posible encontrar trabajos que recogen que la modificación “in situ” de suelos utilizando cationes alquilamonio cuaternarios como el HDTMA, que aumentó la capacidad adsorbente de suelos por contaminantes orgánicos en fase acuosa (Boyd et al., 1988; Burris y Antworth, 1992; Lee et al., 1989; Wagner et al., 1994). Estos estudios demostraron que los suelos modificados con HDTMA podían llegar a ser de 10 a 30 veces más efectivos que la materia orgánica del suelo en la adsorción de este tipo de contaminantes, incluyendo el efecto beneficioso de atenuación de la movilidad de los contaminantes orgánicos en el suelo. Similar resultado demostraron Sánchez et al. (2003) para el insecticida metidación, donde la adición de tetradeciltrimetilamonio (TDTMA) a un suelo calcáreo incrementó la adsorción de éste por un factor de 10, siendo incluso más

efectivo que la enmienda del suelo con lodos de depuradora. El efecto en la movilidad de varios plaguicidas en columnas de suelo arcilloso tras la adición de octadeciltrimetilamonio (ODTMA) dio como resultado el retraso en la lixiviación de los mismos, resultando efectivo para la inmovilización de los agroquímicos en el horizonte más superficial (Rodríguez-Cruz et al., 2007).

Sin embargo, aún sigue siendo escasa la información que concierne a este tipo de procesos, en relación a las posibles interacciones catión orgánico-suelo, cantidad de catión orgánico a adicionar, características específicas del suelo, o efecto de la materia orgánica exógena adicionada a través del catión con el objetivo de optimizar la extensión del proceso así como la evaluación de dichos factores (González et al., 2008). Otro aspecto a considerar es que no se han recabado datos acerca de la posibilidad de utilizar esta técnica de modificación “in situ” de la arcilla del suelo como estrategia para limitar los procesos de transporte del plaguicida, y al mismo tiempo que éste ejerza su función durante un tiempo más prolongado, evitando aplicaciones repetidas.

I.4.2. Residuos orgánicos: el alperujo

La adición de enmiendas orgánicas a los suelos agrícolas es una práctica utilizada para mejorar las propiedades físicas y químicas de los suelos, como por ejemplo, aumentar su contenido en materia orgánica, capacidad de retención de agua y porosidad (Tester, 1990). Este efecto es especialmente beneficioso en los suelos de Andalucía, que se caracterizan por tener un bajo contenido en materia orgánica y una estructura muy sensible a la erosión. Por otra parte, la aplicación de enmiendas orgánicas afecta al mecanismo de adsorción de plaguicidas en suelos, lo que puede influir en el transporte de éstos y en su distribución final en suelos (Si et al., 2006). En esta dirección, las enmiendas orgánicas tienen aplicación en el control de la contaminación por plaguicidas ya que pueden disminuir la cantidad de plaguicida disponible para la lixiviación y escorrentía, reduciendo el riesgo de contaminación de aguas subterráneas y superficiales (Cox et al., 1997b).

Numerosos autores han estudiado el efecto derivado de la adición a suelos de diferentes enmiendas orgánicas en cuanto a la movilidad de plaguicidas se refiere. Entre las enmiendas orgánicas utilizadas se encuentran, por ejemplo, la turba y el carbón vegetal. Si et al. (2011) estudiaron la adición de carbón vegetal a suelos y observaron una disminución en la lixiviación del herbicida isoproturón por un incremento en la adsorción provocado por la materia orgánica añadida. Como enmiendas orgánicas también se han usado residuos orgánicos procedentes de industrias agroalimentarias (Businelli, 1997; Marín-Benito et al., 2009), residuos sólidos urbanos y lodos de depuradora (Celis et al., 1998a,b; Aggelides y Londra, 2000; Sánchez et al., 2003; Annabi et al., 2007; González et al., 2008). Por ejemplo, Celis et al. (1998b) observaron un aumento de la adsorción de atrazina en suelos enmendados con lodos de depuradora, debido a la elevada capacidad de adsorción de la fracción orgánica insoluble de los lodos de depuradora. Sin embargo, cuando sólo aplicaron la materia orgánica soluble de este residuo al suelo disminuyó la adsorción de atrazina, sugiriendo que debido al pequeño peso molecular de la materia orgánica soluble, ésta podría competir con las moléculas de atrazina por los sitios de adsorción en la superficie del suelo.

Más recientemente se ha propuesto como enmienda orgánica el residuo sólido resultante de la transformación termoquímica de biomasa de distinta procedencia; es el denominado carbón biológico o *biochar*. Cabrera et al. (2011) compararon la adsorción y lixiviación de los herbicidas MCPA y fluometurón tras la adición a suelos de carbonos biológicos de procedentes de distintas materias primas. El efecto en el comportamiento de los herbicidas estuvo supeditado al tipo de enmienda, de modo que la lixiviación fue dispar dependiendo de las características de la misma.

Las enmiendas orgánicas empleadas en este trabajo derivan del proceso de extracción del aceite de oliva, se obtienen en las almazaras y se denominan **alperujos**. A continuación se expone una descripción más detallada de los procesos de obtención del aceite de oliva, de las características del alperujo y de los efectos de su adición a los suelos en cuanto a la dinámica de plaguicidas.

I.4.2.1. Producción de aceite de oliva y residuos generados

La obtención del aceite de oliva implica una serie de procesos, empezando por la recolección de la aceituna en el campo hasta su transporte y recepción en las almazaras, donde comienza el lavado de la aceituna, molienda, batido y la propia extracción, que constituyen los pasos básicos de todo el proceso.

La cantidad y propiedades físico-químicas de los residuos que se producen dependen del método de extracción utilizado. Hay dos maneras de extraer el aceite. Una, la forma tradicional por **presión**, que se ha usado durante siglos y que sólo ha sufrido modificaciones menores, y la otra por **centrifugación**, que es el método de extracción que las industrias oleícolas vienen utilizando en las últimas décadas (Roig et al., 2006). Un esquema de los distintos procesos se recoge en la Figura I.25.

En España, la tecnología para la extracción del aceite de oliva ha progresado notablemente desde los años setenta, cuando apareció el sistema de centrifugación de 3 fases. Este sistema utilizaba agua caliente que se añadía a la masa de aceitunas antes de entrar en el decantador para conseguir fluidificar la

masa. Tras la centrifugación se obtienen 3 productos que salen independientemente del decantador: el aceite de oliva, un residuo líquido (alpechín), constituido por el agua de vegetación más agua añadida, y un residuo sólido (orujo) formado por los huesos y restos de las aceitunas (Fig. I.25). Las ventajas de este proceso respecto al sistema de presión tradicional eran: una completa automatización del proceso, mejor calidad del aceite y necesidad de menor espacio. Entre los inconvenientes estaban: un mayor gasto de agua y energía, instalaciones más caras y la generación de una gran cantidad de alpechín en un corto periodo de tiempo, de noviembre a febrero. El alpechín, con un elevado contenido en materia orgánica y fitotoxicidad, con frecuencia era vertido ilegalmente a ríos y arroyos, constituyendo un problema medioambiental. Para evitar estos problemas de contaminación se obligó a las almazaras a gestionar estos residuos, almacenándolos en balsas para su evaporación natural, se desarrollaron plantas para su tratamiento y se usaron como fertilizantes del suelo. Sin embargo, estos sistemas no se han consolidado en el sector oleícola por razones técnicas y económicas (Roig et al., 2006).

A principio de los años 90 se desarrolló un nuevo sistema de extracción de aceite de oliva, conocido como sistema de centrifugación de dos fases, que a diferencia del de tres fases no utiliza agua caliente en la entrada de la masa de aceitunas en el decantador, que tiene dos salidas. Los productos que se generan son el aceite de oliva y un residuo sólido con un elevado contenido en humedad (56-75%) (Albuquerque et al., 2004) llamado **alperujo** y que está constituido por mezcla de aguas de vegetación, partes sólidas de la aceituna y restos grasos (Fig. I.25). Este sistema reduce en un 75% los residuos generados por el sistema de tres fases y consume menos agua, por lo que se le denominó sistema ecológico. En España el sistema de dos fases rápidamente sustituyó al de tres fases y según los datos de IMPEL 2003 el 98% de las almazaras en España utilizan el nuevo sistema de centrifugación para la extracción del aceite de oliva. En Italia y Grecia, sin embargo, se sigue utilizando mayoritariamente el sistema de tres fases (Roig et al., 2006).

El nuevo residuo del sistema de centrifugación de dos fases, el alperujo, presenta como desventajas nuevos problemas de contaminación causados, principalmente, por su alto contenido en materia orgánica y su composición química, que lo hace resistente a la degradación (Morillo et al., 2009). El alperujo contiene

mayoritariamente especies químicas solubles en agua y una alta relación C/N, con valores de pH que oscilan entre 4 y 6. La fracción orgánica presenta una composición variada de: proteínas (4-11%), lípidos (8-20%), ligninas (32-56%), hemicelulosa (27-42%), celulosa (14-25%) e hidratos de carbono solubles (1-16%) (Alburquerque et al., 2004), y además de nutrientes como el potasio que lo hacen atractivo, pero también se compone de compuestos fitotóxicos, principalmente fenólicos (1-2%), que inhiben el crecimiento microbiano, la germinación y el crecimiento vegetativo en plantas (Capasso et al. 1995; Ramos-Cormenzana et al., 1996; Linares et al., 2003). Los compuestos fenólicos del aceite de oliva son los principales determinantes de las acciones antimicrobianas y fitotóxicas de los residuos de las almazaras, generado especialmente por la inestabilidad de los mismos. El perfil fenólico del alperujo es complejo y variable y depende de factores como el fruto (por ejemplo, madurez, variedad, etc...), condiciones climáticas, tiempo de almacenamiento, además de la técnica de procesamiento (Brenes et al., 1999; Morillo et al., 2009).

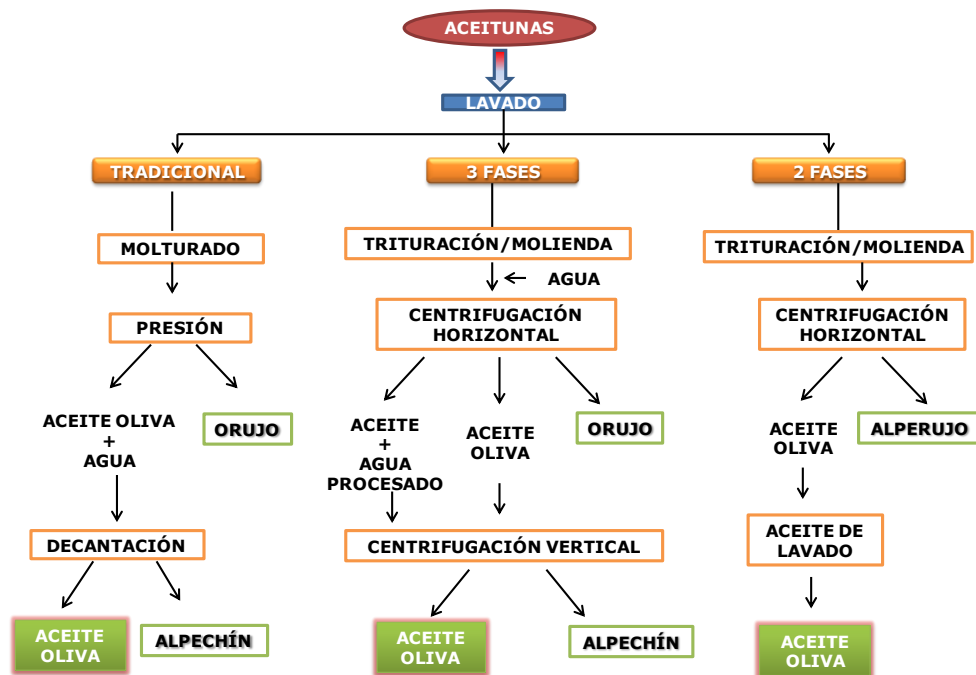


Figura I.25. Representación esquemática de los tres procesos de extracción del aceite de oliva: tradicional por presión, centrifugación de tres fases y centrifugación de dos fases (adaptado de Morillo et al., 2009).

I.4.2.2. Gestión, valorización y reutilización del alperujo

En este apartado se describe la situación actual respecto a la gestión de alperujo, como subproducto en el proceso de extracción de aceite de oliva, aplicaciones y perspectivas futuras.

Se estima que la producción de aceite de oliva mundial ronda los 2.8×10^6 Mg por año y, concretamente en Europa, el mayor productor es España con una media de producción de 0.9×10^6 Mg por año (Lozano-García et al., 2011).

Han sido muchos los esfuerzos de la comunidad científica para revalorizar los subproductos de la producción de aceite de oliva y, durante años, la acumulación de residuos procedentes de almazaras en todos los países mediterráneos ha sido un problema (Roig et al., 2006). Así, la gestión de estos residuos ha sido

ampliamente investigada y algunas de las críticas, van encaminadas a la gestión y reciclaje para revalorizar los residuos y darles posterior uso.

Ha sido a finales del año 2011 cuando se ha establecido la **Ley 5/2011, de 6 de octubre, del olivar de Andalucía**. Esta Ley destaca que *“Los poderes públicos deben emprender acciones para garantizar el desarrollo sostenible de los territorios de olivar, teniendo en cuenta su carácter multifuncional y poniendo en valor los diversos productos y servicios que el olivar ofrece. Se requiere, por tanto, una acción positiva, integral, multidisciplinar y coordinada por parte de los agentes públicos y privados afectados, con objeto de promover la competitividad y sostenibilidad de los territorios olivareros y del sector oleícola en su conjunto, considerando los aspectos económicos, ambientales, sociales y culturales”*.

Esta Ley hace hincapié en la gestión de los residuos derivados de la industria olivarera, para su revalorización y posible explotación posterior. Es aquí donde juega un papel clave el uso de enmiendas agrícolas procedentes de residuos de almazaras obtenidos durante el proceso de extracción de aceite de oliva, según recoge el *Título III* de la misma sobre *Transformación, promoción, y comercialización de los productos del olivar*, concretamente en el artículo 30. Industrialización de los productos del olivar, apartado c) *El aprovechamiento de los subproductos de las industrias olivareras, así como la reducción de los residuos que éstas generan, valorizando los mismos*.

Este es el ejemplo de la preocupación de las instituciones públicas por la problemática existente que supone la producción de los residuos puesto que, concretamente en España, se generan en la actualidad 5.89×10^6 Mg de alperujo (Lozano-García et al., 2011), residuo al cual hay que dar salida.

Ante esta situación, son diversos los tratamientos descritos para el tratamiento del alperujo, bien dirigidos a disminuir su carga tóxica, mediante biorremediación, y/o a mejorar su manejo y gestión, con ayuda de métodos para la bioconversión de alperujos en productos de alto valor añadido (Roig et al., 2006; Morillo et al., 2009).

I.4.2.2.1. Tratamientos físico-químicos de alperujo

1) *Secado y segunda extracción*

Entre estos tratamientos se encuentran el secado y segunda extracción de aceite, como se hacía con el orujo obtenido en el sistema de centrifugación en tres fases, pero el alto contenido en agua del alperujo producía problemas técnicos durante el proceso de secado en las almazaras. Estos problemas dieron lugar al desarrollo de nuevos métodos de secado, pero por el aumento del coste del proceso, por consumir más energía y por la baja demanda de aceite de orujo, no es una alternativa muy utilizada.

Después de la segunda extracción, el residuo sólido que queda (orujillo) se puede utilizar como combustible para obtener energía térmica o eléctrica, porque tiene un elevado poder calorífico (400 Kcal kg^{-1}). Parte de la energía obtenida puede utilizarse para el secado del alperujo fresco (Azbar et al., 2004) y Jurado et al. (2003) proponen usar alperujo para obtener un gas sintético para la producción de energía.

2) *Adición de N mineral para aplicación directa al suelo*

La aplicación de alperujo como enmienda de suelos es una alternativa para la eliminación de este residuo. Proporciona materia orgánica y K y, aunque es menos fitotóxico que el alpechín, produce desequilibrios nutricionales debido a la elevada relación C/N que modifica el ciclo del N, por lo que se recomienda añadir N mineral al alperujo antes de aplicarlo como enmienda (Thompson y Nogales, 1999). López-Piñeiro et al. (2008) aplicaron alperujo y orujillo como enmiendas en olivares para estudiar su efecto en las propiedades del suelo y en el rendimiento de los olivos, observando un aumento en la estabilidad de los agregados y en el contenido en materia orgánica, N total y P y K disponibles. Observaron que la aplicación repetitiva de estos residuos no causó deficiencias de N ni de P y ejerció un efecto positivo en el rendimiento de los olivos, aunque la menor dosis de enmienda (30 Mg ha^{-1}) tuvo mayor efecto sobre la producción de los olivos que la dosis mayor (60 Mg ha^{-1}), concluyendo que alperujo y orujillo pueden aplicarse directamente y servir de

fuelle de C en suelos mediterráneos, contrarrestando el proceso continuo de degradación al que están estos suelos sometidos.

I.4.2.2.2. Tratamientos para la biorremediación de alperujo

Dentro de las transformaciones biotecnológicas a las que se puede someter el alperujo se encuentra la digestión anaeróbica, fermentación y compostaje.

1) Digestión anaeróbica

La digestión anaeróbica presenta una serie de ventajas sobre la aeróbica: se consigue un alto grado de purificación, bajo requerimiento de nutrientes, se generan pequeñas cantidades de lodo residual y se genera biogas como combustible. Borja et al. (2006) estudiaron la digestión anaerobia de alperujo a temperatura mesofílica (35 °C) obteniendo una eficiencia de la eliminación de la demanda química de oxígeno (DQO) del residuo del 83-97%.

2) Fermentación

La fermentación del alperujo por microorganismos en un medio sólido proporciona alimento para el ganado ya que este proceso aumenta las propiedades nutricionales del residuo, al aumentar el contenido en proteínas (Haddadin et al., 1999). Este proceso también genera combustible y enzimas.

3) Compostaje

El proceso de compostaje es una descomposición aeróbica de la materia orgánica en un material llamado compost. La degradación se produce principalmente por la digestión enzimática de los residuos por los microorganismos que utilizan la materia orgánica como sustrato. La degradación de sustancias orgánicas y la mineralización en CO₂, agua y sales orgánicas se acompaña de una reducción de masa de un 40 al 50%. Los residuos orgánicos se apilan en montones y, debido a la intensa actividad biológica de las bacterias en la primera fase de la degradación, se producen reacciones exotérmicas que conducen a temperaturas

que alcanzan los 70 y 80 °C en el interior del montículo. El efecto del calor causa la pasteurización de los residuos. Para garantizar una degradación aeróbica rápida y completa de la materia orgánica biodegradable hay que asegurar una aireación activa o pasiva del montículo de residuos. El proceso de fabricación de compost dura de 3 a 4 meses. Un problema asociado al uso del compostaje del alperujo es el olor que se desprende. Los biofiltros empleados para tratar los gases aspirados de la pila de compost incrementan el total del coste tecnológico (Kobek, 2004).

Este método de valorización cada vez está alcanzando mayor aceptación en el sector agrícola para su utilización posterior como fertilizante, siendo primordial la caracterización de la materia prima de partida (Cayuela et al., 2008). La importancia del compostaje recae en la eliminación de la fitotoxicidad del residuo por cambios en el contenido fenólico. Sin embargo, un factor que de nuevo encarece y dificulta el proceso es que para ser compostado, el alperujo necesita ser mezclado con restos orgánicos de otra procedencia, como pueden ser tallos de uva (Albuquerque et al., 2006) o paja (Madejón et al., 1998), debido a su consistencia semisólida y baja porosidad.

Recientemente se han publicado métodos alternativos de compostaje, como el co-compostaje, en el que se utiliza alperujo para compostar residuos procedentes de otras industrias difíciles de tratar (Albuquerque et al., 2009), el vermicompostaje (Plaza et al., 2008), proceso biotecnológico por el que por medio de lombrices las sustancias orgánicas se convierten en productos húmicos estabilizados. Normalmente, el proceso de vermicompostaje es más eficiente que el de compostaje porque las lombrices se alimentan de la materia orgánica y crean condiciones que favorecen la colonización y degradación por los microorganismos del material orgánico parcialmente descompuesto y fragmentado. Como consecuencia de la acción combinada de los microorganismos y las lombrices, una gran cantidad de materia orgánica se mineraliza en el proceso de vermicompostaje.

I.4.2.2.3. Bioconversión en productos de alto valor añadido

El alperujo puede ser sometido a diversos tratamientos para la obtención de productos de alto valor añadido, aplicables a distintos campos de la actividad humana como la agricultura, industria o energía. Así, los potenciales usos y productos de alto valor añadido que, según Morillo et al. (2009), se pueden extraer del alperujo se recogen en la Figura I.26.

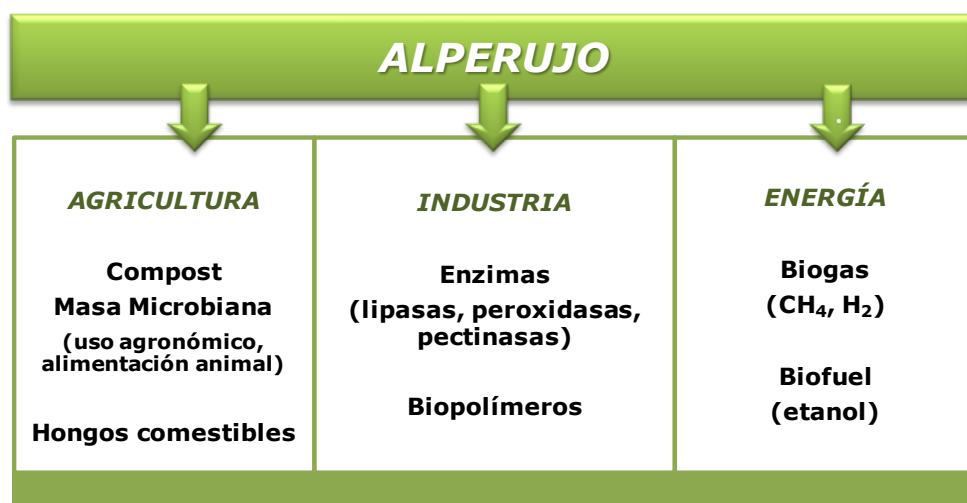


Figura I.26. Usos potenciales y valorización de los residuos de almazara (alperujo).

De entre todas las posibles aplicaciones a las cuales están dirigidas los nuevos métodos para la revalorización del alperujo, nosotros nos centraremos en el uso de éste como enmienda agrícola y sus efectos en la dinámica de los plaguicidas.

I.4.2.3. El alperujo como adsorbente de plaguicidas

La adición de enmiendas orgánicas, y en concreto de alperujo, a los suelos agrícolas es una práctica recomendada para mejorar las propiedades físico-

químicas de los suelos, como por ejemplo, su contenido en materia orgánica. La adición del alperujo, fresco o compostado, mezclado e incorporado al suelo en la dosis adecuada, puede constituir un medio muy efectivo para mejorar el rendimiento de los cultivos, así como para mantener y mejorar la fertilidad de los suelos (Brunetti et al., 2005; Alburquerque et al., 2006), presentando ventajas frente a la adición de otras enmiendas orgánicas por su bajo contenido de patógenos y metales pesados (Cabrera et al., 2007). Este efecto es especialmente beneficioso en los suelos de Andalucía, que se caracterizan por tener un bajo contenido en materia orgánica y escasa capacidad de retención.

Como ocurre con otras enmiendas orgánicas, la adición de alperujo también puede afectar a la dinámica y el comportamiento de los plaguicidas que se aplican a los suelos agrícolas. Por ello, diversos estudios han abordado los efectos de esta práctica en el transporte y degradación de distintos plaguicidas (Albarrán et al., 2003; Cabrera et al., 2007).

Por lo general, la materia orgánica sólida del alperujo aumenta la *adsorción* de los plaguicidas, en mayor o menor medida dependiendo de la afinidad de la molécula de plaguicida por la materia orgánica, que puede inferirse por su valor de K_{oc} . No obstante, en contacto con el agua de lluvia o de riego el alperujo también origina elevadas concentraciones de materia orgánica disuelta (MOD) cuyo efecto en la adsorción de los plaguicidas es más variable (Cox et al., 2004; Fernandes et al., 2006). La MOD puede adsorberse a las partículas del suelo proporcionando sitios adicionales para la adsorción del plaguicida, pero también puede reducir la adsorción por la formación de complejos solubles MOD-plaguicida o si compite con el plaguicida por los mismos sitios de adsorción en el suelo (Celis et al., 1998a).

Por reducir la *movilidad* de los plaguicidas al aumentar su adsorción, numerosos autores han propuestos el uso de alperujo como inmovilizantes para prevenir la contaminación de suelos, sedimentos y acuíferos (Guo et al., 1993; Barriuso et al., 1997; Cox et al., 1999b; Sánchez-Camazano et al., 2000), si bien, también se ha apuntado la necesidad de considerar los efectos de la MOD como movilizadora del plaguicida y facilitar su transporte (Cox et al., 2007; Fernandes et al., 2006).

Aunque es conocido que la adición de enmiendas orgánicas al suelo puede acelerar la degradación de los plaguicidas por estimular el crecimiento de las poblaciones microbianas (Guo et al., 1993; Wagner y Zablotowicz, 1997), muchos autores han observado un aumento de la persistencia de plaguicidas en suelos tras enmendarlos con alperujo (Albarrán et al., 2003, 2004; Cabrera et al., 2008a,b). Diversos mecanismos pueden explicar este aumento de la persistencia, como un uso preferente de la materia orgánica del alperujo como fuente de energía por los microorganismos del suelo, un efecto tóxico de determinados componentes del alperujo sobre las poblaciones degradadoras o una menor biodisponibilidad del herbicida en el suelo enmendado como resultado de un aumento en la adsorción.

El estudio de residuos de almazara como enmiendas agrícolas y su efecto en la dinámica de plaguicidas ha ido evolucionando dependiendo de la tecnología aplicada en la extracción, es decir, en función si se empleaba el sistema de 3 o 2 fases y se obtenía alpechín (residuo líquido) o alperujo (residuo sólido). De este modo, los primeros trabajos iban enfocados al residuo líquido procedente de la extracción del aceite de oliva, el **alpechín**. Por ejemplo, Cox et al. (1997b) observaron en estudios de movilidad de herbicidas en columnas de suelo empaquetadas a mano con suelo arcilloso, una disminución en la lixiviación de clopiralida y nula lixiviación de metamitrón en columnas, en comparación con el mismo suelo sin enmendar (Cox et al., 1997b). Los autores consideraron como causa probable de este fenómeno un aumento en la adsorción y degradación de los herbicidas por la disminución del tamaño y volumen total de los poros del suelo, al incorporar el residuo líquido que tiene un elevado contenido en C orgánico soluble y en suspensión, además de sales. No obstante, Undabeytia et al. (2004) obtuvieron una disminución en la adsorción de imazaquín en 3 de 4 suelos estudiados enmendados con un producto comercial derivado del residuo líquido de almazara.

Últimamente se está estudiando la influencia del residuo sólido del sistema de 2 fases (**alperujo**) en el comportamiento de plaguicidas (Albarrán et al., 2003 y 2004; Fernandes et al., 2006; Cox et al., 2007; Delgado-Moreno y Peña, 2007; Delgado-Moreno et al., 2007a,b). La adición de alperujo y alperujo extractado a un suelo arenoso produjo un aumento en la adsorción y persistencia del herbicida simazina y disminución de la lixiviación y mineralización respecto al suelo no

enmendado o control (Albarrán et al., 2003, 2004). Sin embargo, la adición de alperujo, a pesar del aumento en C orgánico, no siempre implica un aumento en la adsorción de plaguicidas, como pusieron de manifiesto Fernandes et al. (2006), quienes no observaron ningún aumento en la adsorción del fungicida metalaxil en suelos enmendados con alperujo respecto al suelo sin enmendar, y lo atribuyeron a las moléculas de bajo peso molecular y no humificadas de la fracción soluble del alperujo que se absorbían a los componentes minerales de la fracción arcilla del suelo y competían con el fungicida por los sitios de adsorción. Cox et al. (2007) tampoco observaron cambio en la adsorción del herbicida diurón en un suelo arcilloso enmendado con alperujo.

Finalmente, las últimas investigaciones han ido enfocadas a estudios no sólo a nivel de laboratorio si no también bajo condiciones reales de campo. Cabrera et al. (2009) obtuvieron que la adición repetida tanto de alperujo como de alperujo compostado a parcelas de campo incrementó las cantidades de los herbicidas diurón y terbutilazina en el horizonte más superficial, siendo el efecto más pronunciado en el caso de diurón con alperujo que con terbutilazina y alperujo compostado. Más recientemente, López-Piñeiro et al. (2011) presentaron resultados similares tras la aplicación de alperujo a diferentes dosis y estados de maduración a parcelas de campo, para el herbicida terbutilazina, donde ésta permaneció fundamentalmente en los primeros centímetros de suelo reduciendo la lixiviación e incrementando su persistencia. Este hecho haría necesario evaluar el riesgo por escorrentía de los herbicidas ya que al mantenerse éstos en el horizonte más superficial, el transporte por escorrentía podría verse agravado en el caso de lluvias intensas. En este sentido, existe muy poca información sobre los efectos del alperujo en el transporte superficial o escorrentía de los plaguicidas en suelos agrícolas.



II. OBJETIVOS

La presencia de residuos de plaguicidas en suelos y aguas superficiales y subterráneas es motivo de una gran preocupación en la actualidad, que demanda estrategias de prevención y control de la contaminación, tales como el desarrollo de adsorbentes eficaces para dichas sustancias. Andalucía representa un escenario de alto riesgo en lo que a contaminación por plaguicidas se refiere, con varios ejemplos recientes de episodios de contaminación de aguas destinadas al consumo público, que han tenido una gran repercusión social y un elevado coste económico. La especial sensibilidad a la contaminación en Andalucía está relacionada no sólo con su intensa actividad agrícola sino también con factores edafoclimáticos. La escasa capacidad de retención que presentan los suelos, por sus bajos contenidos en materia orgánica, hace que, durante los periodos de breves pero intensas lluvias habituales en la zona, puedan producirse grandes pérdidas de plaguicidas por procesos de lixiviación y escorrentía, éstos últimos favorecidos por la propensión a la erosión de los suelos mediterráneos.

La **hipótesis de partida** para esta Tesis Doctoral ha sido considerar que una forma de disminuir la incidencia de los procesos que dan lugar a pérdidas de eficacia y a la contaminación de suelos y aguas por los plaguicidas aplicados a los suelos agrícolas andaluces podría ser incrementar el proceso de adsorción de los mismos por parte del suelo, a través de la adición de materiales adsorbentes que mantengan al producto fitosanitario en horizontes superficiales y reduzcan su transporte hacia zonas alejadas del lugar de aplicación.

Así, el objetivo general de esta memoria ha sido evaluar comparativamente, a través de experimentos de laboratorio y de campo, el uso de dos tipos de materiales, organoarcillas y alperujo, como enmiendas para el tratamiento de suelos agrícolas, con el fin de incrementar el proceso de adsorción de herbicidas, prolongar su presencia en la zona radicular y de esta forma mejorar su eficacia y atenuar los problemas de contaminación causados por el transporte de los mismos a través de procesos de lixiviación y escorrentía.

Para la consecución del objetivo propuesto, se seleccionaron y caracterizaron distintas montmorillonitas intercambiadas con cationes orgánicos

II. Objetivos

(organoarcillas) y distintos residuos de almazara (alperujo) y se diseñaron experimentos dirigidos a determinar la capacidad adsorbente de estos materiales para herbicidas usados en cultivos andaluces, así como a evaluar el efecto de su adición a suelos agrícolas en la adsorción, persistencia, movilidad y eficacia biológica de los herbicidas, bajo condiciones de laboratorio y de campo.

Para los *experimentos de laboratorio*, los herbicidas seleccionados fueron fluometurón y mecoprop, por ser representativos de herbicidas aplicados en cultivos mayoritarios de Andalucía (principalmente algodón, olivar y cereales) y por su potencial movilidad en el suelo. En primer lugar, se determinó la capacidad adsorbente de diferentes organoarcillas y alperujos para los herbicidas seleccionados y posteriormente se llevaron a cabo experimentos en condiciones controladas para evaluar la adsorción, persistencia, lixiviación y eficacia biológica de los herbicidas en suelos agrícolas con diferentes usos y propiedades fisicoquímicas, sin enmendar y enmendados con diferentes dosis de las organoarcillas y alperujos. En el caso de mecoprop, comercializado tanto en forma de mezcla racémica de sus dos posibles estereoisómeros (R+S ó MCPP) como de enantiómero activo purificado (R ó MCPP-P), los estudios se realizaron con ambas formulaciones con fines comparativos. En los estudios con organoarcillas, también se dedicó un apartado a evaluar la posible modificación *in situ* de suelos arcillosos por la adición directa de cationes orgánicos, como alternativa a la adición de organoarcilla, para modular el comportamiento de herbicidas.

Los *experimentos de campo* se llevaron a cabo en parcelas de un suelo de olivar, sin tratar y tratado con organoarcilla o alperujo, a las que se aplicó una formulación comercial del herbicida fluometurón que también contenía terbutilazina, usado como herbicida de referencia con fines comparativos. A diferentes tiempos que fueron seleccionados en función de las precipitaciones acontecidas, se tomaron muestras de suelo a diferentes profundidades y del agua de escorrentía procedente de las parcelas, y se evaluó el efecto de las enmiendas en la persistencia, lixiviación, escorrentía y eficacia biológica de los herbicidas ensayados, bajo condiciones ambientales reales.

Aunque existen algunos estudios previos sobre los efectos del alperujo en la dinámica de herbicidas en suelos agrícolas, este trabajo profundiza en los efectos de esta práctica, no sólo a través de estudios de laboratorio sino también bajo condiciones reales de campo, y aborda sus consecuencias en el transporte por escorrentía, aspecto sobre el cual existe muy poca información. Una propuesta adicional particularmente novedosa es la de usar organoarcillas como enmiendas para modular el comportamiento de los herbicidas en suelos agrícolas, pues hasta ahora la mayoría de los estudios sobre organoarcillas como adsorbentes de plaguicidas se han centrado en otro tipo de aplicaciones como la depuración de aguas, el desarrollo de formulaciones de liberación lenta o la inmovilización de contaminantes en suelos, habiéndose llevado a cabo mayoritariamente bajo condiciones controladas en el laboratorio.



III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. MATERIALES

III.1.1. Herbicidas

III.1.1.1. Fluometurón

Fluometurón (FM) es el nombre comercial del 3-(3-trifluorometil-fenil)-1,1-dimetilurea (Fig. III.1). En su estado puro, es un sólido cristalino de color blanco, con un peso molecular de 232.2 g/mol, solubilidad en agua de 110 mg/l (20 °C), presión de vapor de 0.125 mPa (25 °C) y punto de fusión entre 163-164.5 °C (Tomlin, 2006).

Es un herbicida de translocación, del grupo de las fenilureas, que se absorbe por la raíz, aunque también puede presentar cierta actividad foliar, y que actúa inhibiendo la fotosíntesis. Su espectro de acción va dirigido al control de plantas anuales y perennes de hoja ancha y malas hierbas, aplicándose en pre-emergencia o post-emergencia temprana de la planta a combatir a una dosis de 1.25-2 kg/ha. Los cultivos en los que suele aplicarse son algodón, olivo y vid, siendo coaplicado en los dos últimos casos principalmente con terbutilazina.

En el suelo, FM presenta una adsorción relativamente baja ($K_{oc}=31-117$ l/kg) y una persistencia moderada ($DT_{50}=10-100$ días), dando como resultado un elevado riesgo de lixiviación, especialmente en suelos arenosos (Tomlin, 2006; PPDB, 2012). Su degradación ocurre principalmente a través de reacciones oxidativas y transformaciones hidrolíticas durante el metabolismo microbiano, con la formación de dos metabolitos principales: desmetil-fluometurón y m-trifluorometilanilina (PPDB, 2012).

En los experimentos de laboratorio realizados en este trabajo, se utilizó fluometurón de alta pureza (99.5%) proporcionado por Sigma-Aldrich y el producto comercial Dinagam Linz, consistente en una suspensión concentrada de fluometurón al 50% (p/v), suministrado por Bayer S.A. El producto de alta pureza se utilizó para preparar los patrones externos utilizados para los análisis por HPLC y para preparar las disoluciones iniciales utilizadas en los experimentos de adsorción-

desorción. El producto comercial se utilizó en los estudios de persistencia, lixiviación y actividad biológica realizados en condiciones de laboratorio.

En los experimentos de campo incluidos en esta memoria, el fluometurón se aplicó en combinación con terbutilazina, ambos al 23% (p/v), en forma de producto comercial Athado Olivo, que fue suministrado por Probelte, S.A.

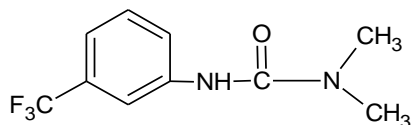


Figura III.1. Estructura química de fluometurón.

III.1.1.2. Mecoprop y mecoprop-P

Mecoprop (MCP) es el nombre comercial con el que se conoce a la mezcla racémica del ácido (*RS*)-2-(4-chloro-o-toliloxy) propiónico (Figura III.2). En su estado puro, es un sólido cristalino incoloro, con un peso molecular de 214.6 g/mol, solubilidad en agua de 880 mg/l (25 °C), presión de vapor de 1.6 mPa (25 °C) y punto de fusión entre 93-95 °C. Tiene características de ácido débil presentando una constante de disociación o *pKa* de 3.8 (Tomlin, 2006).

Es un herbicida selectivo, sistémico y de translocación de tipo auxínico, absorbido por las hojas y transportado hasta las raíces. Es utilizado en postemergencia para el control de malas hierbas de hoja ancha en cultivos tales como avena, cebada, maíz, trigo y frutales y también para uso ornamental como en céspedes y prados de gramíneas. Suele aplicarse con otros herbicidas para ampliar el espectro de acción, siendo su dosis de aplicación de 2-3 kg/ha (Tomlin, 2006).

En el suelo, MCP suele encontrarse en forma aniónica, lo que hace que presente una adsorción muy escasa (K_{oc} = 12-25 l/kg) y, por consiguiente, una movilidad muy elevada (Tomlin, 2006; PPDB, 2012). No obstante, su baja persistencia en la mayoría de los suelos (DT_{50} = 1-2 semanas) reduce el riesgo de contaminación por lixiviación y escorrentía del compuesto a tiempos prolongados

después de su aplicación. En el suelo, MCPP es degradado principalmente por microorganismos a 4-cloro-2-metilfenol, seguido de la hidroxilación del anillo en la posición 6 y posterior apertura del mismo (Tomlin, 2006).

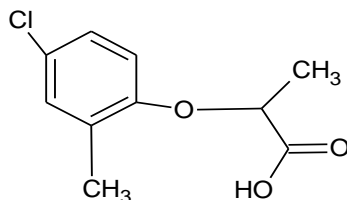


Figura III.2. Estructura química de mecoprop.

Mecoprop-P (MCP-P) es el nombre con el que se conoce a la forma esteroisómera activa de mecoprop y su nombre IUPAC es ácido (*R*)-2-(4-cloro-*o*-tolylxy) propiónico (Figura III.3). En estado puro, es un sólido cristalino incoloro, de propiedades similares a las de la mezcla racémica. Presenta la misma forma de actuación y es aplicado con el mismo objetivo que mecoprop, aunque se usa a dosis inferiores (1-1.5 kg/ha), al corresponder a la forma estereoisómera activa purificada del producto.

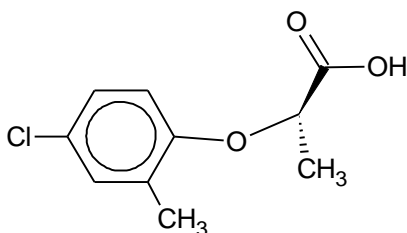


Figura III.3. Estructura química de mecoprop-P.

En este trabajo, tanto mecoprop como mecoprop-p se utilizaron en forma de producto de alta pureza (99.6%) suministrado por Sigma-Aldrich.

III.1.1.3. Terbutilazina

La terbutilazina [*N*²-*tert*-butil-6-cloro-*N*⁴-etil-1,3,5-triazina-2,4-diamina] (Figura III.4) es un herbicida del grupo químico de las *s*-triazinas. En su estado puro, es un sólido incoloro con un peso molecular de 229.7 g/mol, solubilidad en agua de 8.5 mg/l (20°C), presión de vapor de 0.15 mPa (25 °C) y punto de fusión entre 177 y 179 °C. Tiene características de base débil siendo su *pK*_a de 2.0 (Tomlin, 2006).

Se trata de un herbicida de amplio espectro, con un modo de acción sistémica, que inhibe el transporte de electrones en la fotosíntesis. Es bien absorbido por las raíces y en menor grado por las hojas y se usa en preemergencia y postemergencia temprana para el control de un amplio espectro de malas hierbas en cultivos y plantaciones de cítricos, frutales de pepita, maíz, olivo y vid, entre otros. Las dosis de aplicación están comprendidas entre 0.6 y 3 kg/ha, si bien en Europa su uso se encuentra limitado a 1.5 kg/ha, siendo aplicado generalmente en combinación con otros herbicidas (Tomlin, 2006).

En el suelo, la terbutilazina presenta una adsorción más elevada que fluometurón y mecoprop (*K*_{oc}= 162-278 l/kg) y una vida media entre 1 y varios meses. Por vía microbiana, la terbutilazina sufre una desmetilación de la cadena lateral, una hidroxilación que resulta de la hidrólisis de los átomos de Cl y del grupo amino desmetilado y la ruptura del anillo (Tomlin, 2006).

En este trabajo sólo se ha empleado la terbutilazina para los experimentos de campo, como herbicida de referencia por su mayor persistencia y menor movilidad en comparación con fluometurón. La formulación utilizada fue Athado Olivo, suspensión concentrada con una combinación al 23% p/v de terbutilazina y fluometurón, proporcionada por Probelte S.A. Para la preparación de los patrones externos utilizados en los análisis de este herbicida por HPLC se usó terbutilazina de alta pureza (99%) suministrada por Dr. Ehrenstorfer.

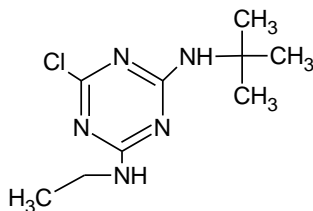


Figura III.4. Estructura química de terbutilazina.

III.1.2. Suelos

En esta memoria se han utilizado cuatro suelos agrícolas (S1, S2, S3, S4), seleccionados por sus diferentes características en cuanto a uso y composición, procedentes todos ellos de zonas agrícolas de la provincia de Sevilla (Figura III.5). Los suelos S2 y S4 corresponden a diferentes parcelas de cultivo de la finca experimental “La Hampa”, que el IRNAS (CSIC) posee en la localidad de Coria del Río, mientras que los suelos S1 y S3 corresponden a explotaciones agrícolas privadas situadas en las localidades de Las Cabezas de San Juan y Tocina y dedicadas al cultivo de algodón y cítricos, respectivamente. La nomenclatura, procedencia, uso y clase textural de cada uno de los suelos se encuentran resumidas en la Tabla III.1, junto con el tipo de experimento (de laboratorio o campo) para el que se usó cada uno de ellos.



Figura III.5. Mapa con la localización de los suelos empleados en esta memoria.

Tabla III.1. Procedencia, uso, clasificación textural y experimentos en los que fueron usados cada uno de los suelos.

Suelo	Procedencia	Uso	Textura	Experimento
S1	Las Cabezas de San Juan (Sevilla)	Algodón	Arcilla	Laboratorio
S2	Coria del Río (Sevilla)	Olivar	Franco-arenoso	Laboratorio y Campo
S3	Tocina (Sevilla)	Cítricos	Arcilla	Laboratorio
S4	Coria del Río (Sevilla)	Cereal	Arenoso-franco	Laboratorio

Para su caracterización y realización de los estudios de laboratorio, los suelos fueron muestreados a una profundidad de 20 cm, secados al aire y posteriormente tamizados a una luz de malla de 2 mm para después ser almacenados en cámara fría a una temperatura de 4 °C.

III.1.3. Adsorbentes

III.1.3.1. Arcillas modificadas con cationes orgánicos

Las arcillas utilizadas para la síntesis de las organoarcillas fueron dos montmorillonitas de referencia, SWy-2 y SAz-1, suministradas por “The Clay Mineral Society”. Sus principales características se dan en la Tabla III.2.

Tabla III.2. Características de las arcillas empleadas.

Arcilla	Mineralogía	Principal catión de cambio	Capacidad de intercambio catiónico (cmol _c /kg) ^a	Superficie específica (m ² /g) ^b	Densidad de carga superficial (μmol _c /m ²) ^b
SWy-2	Montmorillonita dioctaédrica	Na ⁺	76.4	766	1.07
SAz-1	Montmorillonita dioctaédrica	Ca ²⁺	120	768	1.69

^a Capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) según Celis et al. (2007)

^b Superficie específica y densidad de carga superficial según Wang et al. (2009)

Los cationes orgánicos empleados para la modificación de las montmorillonitas fueron: espermina (SPERM), tiramina (TIRAM), L-carnitina (CAR), hexadimetrina (HEXADIM), feniltrimetilamonio (PTMA) y hexadeciltrimetilamonio (HDTMA), suministrados por Sigma-Aldrich en forma de la sal correspondiente (cloruro o bromuro) de los mismos.

Espermina, tiramina y L-carnitina fueron seleccionados por ser de origen natural y por ende minimizar el riesgo de contaminación una vez que son incorporados al medio. Esto es un aspecto a favor frente a cationes orgánicos del tipo alquilamonio, tradicionalmente usados, cuyo efecto tóxico sobre la actividad microbiana del suelo ha sido demostrada (Sarkar et al., 2010).

Asimismo, se utilizaron el polímero sintético hexadimetrina, que tiene utilidad médica por ser aglutinante de los glóbulos rojos en sangre (Grann et al., 1978), y los cationes tipo alquilamonio hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) y

feniltrimetilamonio (PTMA), como cationes de referencia ampliamente citados en la bibliografía (El Nahhal et al., 2000; Cruz-Guzmán et al., 2004, 2005).

En la Figura III.6 se muestran las estructuras químicas de los cationes utilizados para la modificación de las montmorillonitas.

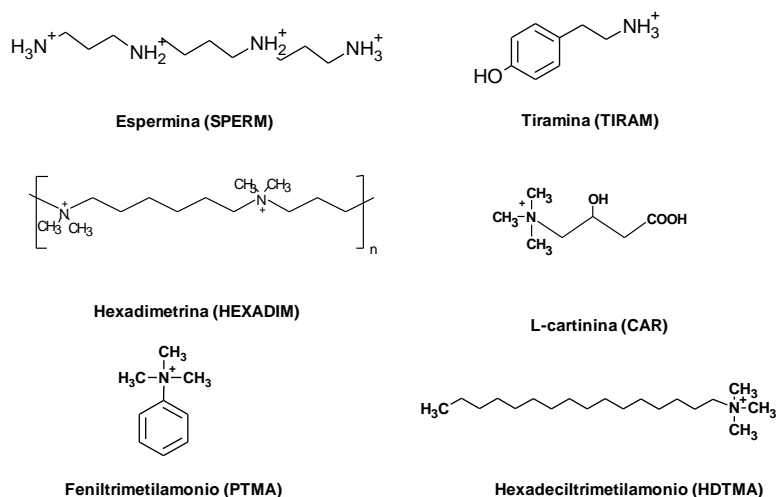


Figura III.6. Estructura química de los cationes orgánicos empleados para la modificación de las montmorillonitas.

La síntesis de las organoarcillas con los cationes tiramina, L-carnitina, espermina y hexadimetrina se llevó a cabo siguiendo los pasos descritos en Celis et al. (2007). Para ello, se disolvió la cantidad de catión orgánico (sal de bromuro o cloruro) correspondiente al 100% de la capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) de cada montmorillonita (SWy-2 y SAz-1) (Tabla III.1) en 50 ml de una disolución 1 mM de HNO_3 y se añadió 1 g de arcilla. Las suspensiones se agitaron durante 24 h, se centrifugaron, se lavaron 3 veces con 100 ml de agua destilada y finalmente se liofilizaron. Paralelamente, se obtuvieron muestras control o blancos de arcilla sin catión orgánico tratando 1 g de arcilla con 50 ml de HNO_3 1 mM y siguiendo el mismo procedimiento que para la preparación de las organoarcillas.

Las montmorillonitas modificadas con los cationes alquilamonio, hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) y feniltrimetilamonio (PTMA), se prepararon a partir del tratamiento de 100 g de cada una de las arcillas (SWy-2 y SAz-1) con una

disolución etanol:agua (50:50) del cloruro de alquilamonio que contenía la cantidad de catión orgánico correspondiente al 100% de la C.I.C. de la montmorillonita. Las suspensiones se agitaron durante 24 h, se centrifugaron y lavaron tres veces con una mezcla etanol:agua (50:50) y posteriormente con agua destilada, para ser finalmente dializadas y liofilizadas.

La nomenclatura utilizada para las muestras de arcillas modificadas y sin modificar se resume en la Tabla III.3.

Tabla III.3. Nomenclatura de las arcillas inalteradas y modificadas empleadas.

Nomenclatura	Montmorillonita	Catión modificador	Cantidad de catión modificador añadido ^a (g/kg)
SWy-2 (sin tratar)	SWy-2	--	-- ^a
SWy-2 (blanco)	SWy-2	--	0
SW-CAR	SWy-2	Carnitina	97.8
SW-SPERM	SWy-2	Espermina	39.4
SW-HEXADIM	SWy-2	Hexadimetrina	81.8
SW-TYRAM	SWy-2	Tiramina	105.4
SW-PTMA	SWy-2	Feniltrimetilamonio	103.9
SW-HDTMA	SWy-2	Hexadeciltrimetilamonio	215.8
SAz-1 (sin tratar)	SAz-1	--	--
SAz-1 (blanco)	SAz-1	--	0
SA-CAR	SAz-1	Carnitina	153.7
SA-SPERM	SAz-1	Espermina	61.8
SA-HEXADIM	SAz-1	Hexadimetrina	128.4
SA-TYRAM	SAz-1	Tiramina	165.6
SA-PTMA	SAz-1	Feniltrimetilamonio	163.2
SA-HDTMA	SAz-1	Hexadeciltrimetilamonio	340.8

^a La cantidad añadida de catión modificador equivalió a la C.I.C.de SWy-2 ó SAz-1.

III.1.3.2. Residuos orgánicos

Para este trabajo se han utilizado tres residuos de almazara. En la Tabla III.4 se muestra la nomenclatura, procedencia y tratamiento recibido de los alperujos empleados en esta Tesis Doctoral, y se indican los experimentos en los que se utilizaron.

Los alperujos frescos (ALP y ALPcam) se obtuvieron inmediatamente después del proceso de centrifugación. Para disminuir la humedad del mismo se secaron al aire libre mediante volteo con máquina pala.

El alperujo compostado se obtuvo dejando el alperujo fresco en un tanque para que se secase al aire, favoreciendo el proceso de fermentación y consiguiendo reducir el contenido en polifenoles que son fitotóxicos. Posteriormente, se añadieron restos de poda y hojas de los olivos con el objetivo de favorecer la aireación. El tiempo de compostaje duró entre 4 y 6 meses.

Los alperujos fresco (ALP) y compostado (ALPcom) empleados en los experimentos de laboratorio fueron molidos y tamizados a una luz de malla de 2 mm y se conservaron en botes cerrados. El alperujo correspondiente al experimento de campo (ALPcam) se utilizó en forma de pellets de unos 5 mm.

Tabla III.4. Nomenclatura, procedencia y tratamiento de los alperujos y experimentos en los que se utilizaron.

Nomenclatura	Procedencia	Tratamiento	Experimento
ALP	Marchena	Fresco	Laboratorio
ALPcom	Jaén	Compostado	Laboratorio
ALPcam	Osuna	Fresco	Campo

III.2. MÉTODOS

III.2.1. Método analítico para la determinación de los herbicidas

El método analítico empleado para la determinación de los herbicidas ha sido la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Todos los herbicidas se analizaron con un cromatógrafo de la casa comercial “Waters Millipore”, consituido por un controlador del sistema Waters 600E System Controller, un detector de radiación ultravioleta emitida por lámpara de deuterio Waters 998 Photodiode Array Detector y un inyector automático de muestras Waters 717 Autosampler. Las principales condiciones utilizadas en los análisis cromatográficos se recogen en la Tabla III.5. En todos los casos, se utilizó un flujo de fase móvil de 1 ml/min, un volumen de inyección de muestra de 25 µl y patrones externos para la calibración. La columna cromatográfica para fluometurón y terbutilazina fue Novapack C18, 4 µm (150 mm de longitud x 3.9 mm de diámetro interno), mientras que para MCPP y MCPP-P se usó una columna Supelcosil LC-18-DB, 5 µm (150 mm de longitud x 4.6 mm de diámetro interno). La Figura III.7 muestra cromatogramas representativos de disoluciones patrones de los herbicidas a una concentración de 1 mg/l.

Tabla III.5. Condiciones analíticas utilizadas para la determinación de los herbicidas por HPLC.

Herbicidas	Fase móvil ^a	λ de detección (nm)	Tiempo de retención (min)	Tiempo de análisis (min)
Fluometurón	H ₂ O:AcN (60:40)	243	3.8	6
MCPP	MeOH:H ₃ PO ₄ (70:30) pH=2	226	4.4	7
MCPP-P	MeOH:H ₃ PO ₄ (70:30) pH=2	226	4.4	7
Fluometurón + Terbutilazina ^b	H ₂ O:AcN (50:50)	243	3.5	10
		220	6.9	

^aAcN: acetonitrilo, MeOH: metanol

^bCondiciones utilizadas para la determinación simultánea de fluometurón y terbutilazina en los experimentos de campo.

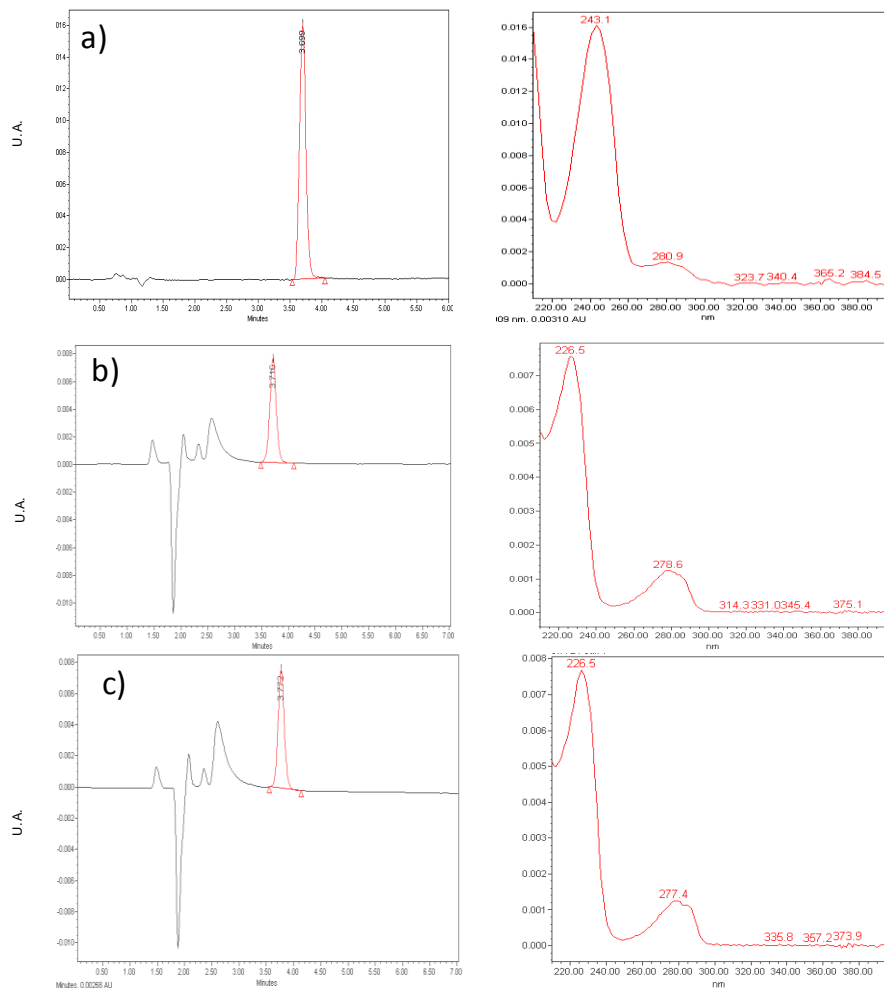


Figura III.7. Cromatogramas obtenidos para los herbicidas a) fluometurón, b) MCPP-P y c) MCPP con una disolución patrón de 1 mg/l junto con sus respectivos espectros de absorción.

Los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC) del HPLC se calcularon como la concentración correspondiente a una relación señal:ruido 3:1 y 10:1, respectivamente (Camacho-Muñoz et al., 2009). Los resultados obtenidos se encuentran recogidos en la Tabla III.6.

Tabla III.6. Límites de detección y cuantificación para el análisis de los herbicidas por HPLC.

Herbicidas	LD (mg/l)	LC (mg/l)
Fluometurón	0.01	0.03
MCPP	0.02	0.06
MCPP-P	0.02	0.06
Terbutilazina	0.01	0.02

III.2.2. Caracterización de los suelos

Los suelos se caracterizaron mediante procedimientos convencionales de análisis ampliamente descritos en la bibliografía (Jackson, 1975; Klute, 1986). La textura se determinó por sedimentación (Gee y Bauder, 1982). El contenido en carbono orgánico y carbonatos se determinaron mediante oxidación con dicromato (Nelson y Sommers, 1982) y por descomposición de los carbonatos con HCl, respectivamente. La capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.) de cada suelo se obtuvo por el método de acetato de amonio 1 M (Tabatabai y Bremmer, 1970) y el pH se midió en una suspensión 1:2.5 de suelo: 1 M KCl.

Además, en el caso de los suelos utilizados en los experimentos de laboratorio, se llevó a cabo una caracterización adicional de los mismos consistente en medidas de distribución de tamaños de poros y determinación de la mineralogía de la fracción arcilla.

Las distribuciones de tamaños de poros (de 40 a 0.004 μm) se obtuvieron mediante porosimetría de intrusión de mercurio usando un porosímetro modelo 2000 de Carlo Erba. Las medidas de porosidad se realizaron utilizando un agregado de aproximadamente 1 g de cada suelo que se secó a 90 °C durante 24 h antes del análisis de porosimetría.

La fracción arcilla de los suelos se obtuvo por sedimentación (fracción de tamaño de partícula < 2 μm) tras la eliminación previa de carbonatos con acetato/acético (pH=5) (Jackson, 1975). La mineralogía de las fracciones arcilla se determinó por difracción de rayos X sobre agregados orientados saturados en Mg^{2+} y K^+ , tratados con etilenglicol y calcinados a 500 °C, respectivamente (Brown, 1961).

III.2.3. Caracterización de los adsorbentes

III.2.3.1. Caracterización de las arcillas inalteradas y modificadas

El contenido en C y N de las muestras de montmorillonitas inalteradas y modificadas con los cationes orgánicos se obtuvo usando un analizador elemental Carlo Erba, modelo EA 1108. Los espaciados basales se determinaron mediante difracción de rayos X de los agregados orientados de cada una de las muestras, utilizando un difractómetro Siemens D-5000 con radiación $\text{CuK}\alpha$. Los espectros de infrarrojos con transformadas de Fourier (FT-IR) se registraron en un espectrómetro Nicolet 5 PC, con pastillas de KBr, siendo el contenido de muestra del 1%. El análisis térmico diferencial (DTA) y termogravimétrico (TG) de las muestras fue realizado al aire entre temperatura ambiente y 900 °C usando una rampa de 10 °C/min en un equipo Setaram Setsys Evolution 16/18.

Para las muestras SW-SPERM y SA-HEXADIM se realizó una caracterización más exhaustiva de las mismas, por su especial interés dentro del contexto de esta memoria, ya que fueron de las organoarcillas estudiadas, las que

presentaron mejores propiedades adsorbentes para los herbicidas estudiados. La metodología empleada para dicha caracterización se detalla a continuación.

III.2.3.1.1. Caracterización del sistema SW-SPERM

Previamente a los experimentos, la montmorillonita SWy-2 fue saturada en el catión Na^+ mediante la dispersión de 40 g de SWy-2 en 1 l de NaCl (0.5 M) durante 24 h, se lavó repetidas veces con agua Millipore® para eliminar el exceso de sal y finalmente, por centrifugación, se recolectó la fracción $< 2 \mu\text{m}$ para ser liofilizada y almacenada.

Preparación y caracterización de films autoportados. Se prepararon una serie de siete disoluciones de 20 ml de tetraclorhidrato de espermina que contenían una cantidad de espermina correspondiente a 0, 0.15, 0.30, 0.45, 0.60, 0.90 y 1.2 veces la C.I.C. de SWy-2, se añadieron a 25 mg de arcilla y se dejaron agitar en tubos de centrífuga a temperatura ambiente durante 24 h. Transcurrido el tiempo, las suspensiones se dispersaron y el volumen se dividió en dos fracciones de 10 ml que contenían 12.5 mg de arcilla cada una. Ambas fracciones se filtraron por separado utilizando filtros de membrana (47 mm, $0.45 \mu\text{m}$ de tamaño de poro, Millipore Co, Bedford, MA), dejando los sólidos secar a temperatura ambiente. Tras el secado, se obtuvieron films autoportados que posteriormente se utilizaron para el análisis mediante difracción de RX, FTIR y TGA.

Difracción de Rayos X. Los films se dispusieron en portaobjetos de vidrio para registrar los difractogramas en un difractómetro de RX, PANalytical B.V. Diffractometer, Modelo X'Pert PRO con radiación de Co. Los espaciados basales de los films se determinaron para las muestras secadas al aire y tras saturar los films con vapor de agua durante 24 h. Las condiciones de operación para la realización de los análisis fueron: una velocidad de barrido de $2^\circ/\text{min}$, un paso de 0.02° y un intervalo de barrido de 2 a 80° en unidades de 2θ . Se utilizó una rejilla Soller entre 2 y $12^\circ 2\theta$. Los datos se analizaron con el software X'PertHigh Score Plus, Versión 2.2 (PANalytical B.V.).

Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR). Los espectros de infrarrojos de los films se registraron en un espectrómetro Perkin-Elmer GX2000, equipado con detectores Deuterado-Triglicina (DTGS) y Mercurio-Cadmio-Teluro (MCT). El barrido se realizó en el rango espectral de 4000 a 580 cm^{-1} , utilizando 64 registros y una resolución nominal de 4 cm^{-1} . El espectro de espermina pura se registró usando reflectancia difusa, en pastillas de KBr al 1% de muestra. El software utilizado para el tratamiento de espectros fue Grams/32 (Galactic software).

Análisis termogravimétrico. Para el análisis termogravimétrico, llevado a cabo en un equipo Mettler Toledo Model-TGA/SDTA851e, los films se molieron en un mortero de ágata colocando el sólido en polvo en crisoles de cerámica de 40 μl . Las muestras se sometieron a un calentamiento comprendido entre los 25°C y 1000°C de temperatura, a una velocidad constante de 20°C/min en una corriente de N_2 . Finalmente, todas las curvas termogravimétricas se normalizaron a una cantidad de muestra inicial correspondiente a 10 mg.

Medidas “in situ” de Reflectancia Total Atenuada-FTIR (ATR-FTIR). Para profundizar en la caracterización del sistema SW-SPERM se llevaron a cabo mediciones con ATR-FTIR. Para ello se empleó una celda de ATR (Tecnologías de Pike, Madison, WI), siendo el elemento de reflexión interna (ERI) de la celda un cristal de ZnSe de dimensiones 73 mm x 7 mm, con un ángulo de incidencia de 45°. Para estudiar la adsorción de espermina en SWy-2, 5 mg de arcilla se dispersaron en 5 ml de agua ultra pura durante 30 minutos en ultrasonidos. Un mililitro de esta suspensión se depositó en la celda dejándose secar durante 24 h. El depósito de arcilla originado se lavó con alícuotas de 1 ml de agua hasta que se obtuvo una intensidad constante de la banda $\nu(\text{O-H})$, esto es, hasta la saturación en agua de la arcilla. Posteriormente, se adicionaron secuencialmente al depósito de arcilla alícuotas de 1 ml de disoluciones de espermina que contenían una cantidad de catión orgánico equivalente a 0.15 veces la C.I.C. de SWy-2, hasta obtener una señal estable de espermina. El procedimiento se repitió aumentando la concentración de la disolución de catión orgánico hasta un total de 25 adiciones.

Modelización. Se utilizó modelización molecular para obtener la disposición más favorable de espermina en la interlámina de la montmorillonita SWy-2. Para

ello, se utilizó el programa CLAYFF force field implementado en el software Material Studio Version 4.2 (Accelrys, Inc., San Diego, CA).

III.2.3.1.2. Caracterización del sistema SA-HEXADIM

La caracterización del sistema SA-HEXADIM se llevó a cabo de forma similar a la descrita en el apartado III.2.3.1.1 para el sistema SW-SPERM. La síntesis consistió en preparar una serie de siete disoluciones de 20 ml de bromuro de hexadimetrina que contenían una cantidad de hexadimetrina correspondiente a 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.75, 1.1 y 1.5 veces la C.I.C. de SAz-1. A continuación se siguió el mismo proceso descrito para SW-SPERM, aunque, dado que con la montmorillonita SAz-1 no se consiguió la formación de films autosoportados, tras el secado en los filtros las muestras se molieron para su posterior análisis por difracción de RX, FTIR y TGA. En el caso de SA-HEXADIM, el análisis por difracción de RX se llevó a cabo sobre las muestras de polvo y el de FT-IR usando pastillas de KBr con un contenido de muestra del 1%, bajo las mismas condiciones analíticas a las utilizadas para el sistema SW-SPERM.

III.2.3.2. Caracterización de los alperujos

La caracterización de los alperujos se llevó a cabo en el servicio de análisis del IRNAS. La Tabla III.7 recoge las técnicas empleadas para cada uno de los parámetros.

III. Materiales y Métodos

Tabla III.7. Parámetros determinados para los alperujos y técnica empleada.

Determinación	Técnica Analítica
Humedad	Gravimetría (Secado a 105 °C)
pH (ext. agua 1:5)	Potenciometría
Conductividad (ext. agua 1:5)	Conductivimetría
Carbono total	Analizador de carbono con módulo de N
Materia Orgánica	Calcinación (550° C)
Cenizas	Calcinación (550° C)
N total(kjedahl)	Destilación-valoración automática

Con el fin de conocer más exhaustivamente las propiedades adsorptivas de los alperujos utilizados (ALP, ALPcom y ALPcam) se llevó a cabo la caracterización espectroscópica de la materia orgánica soluble (MOS) de cada uno de ellos.

Las técnicas utilizadas para la caracterización de la MOS han sido la espectroscopia FTIR y la espectroscopia de fluorescencia, técnicas ampliamente empleadas para la caracterización de la MOS (Cox et al., 2000b, 2004; Ohno et al. 2007). Asimismo, se determinó el contenido de carbono orgánico en los extractos de la MOS.

El procedimiento seguido para la caracterización de la MOS en los alperujos través de FTIR, consistió en pesar por duplicado 5 g de los alperujos y se añadieron 10 ml de CaCl_2 , se agitaron durante 15 minutos. Se centrifugaron a 8000 rpm durante 15 minutos, los sobrenadantes se filtraron con filtros de membrana de 0.45 μm y finalmente se liofilizaron. Para el análisis mediante FTIR, se prepararon pastillas de KBr de las muestras en una relación 1:100, y el barrido utilizado estuvo

comprendido entre 400 y 4000 cm^{-1} , utilizando un promedio de 4 registros y una resolución nominal de 4 cm^{-1} .

Para el análisis de la MOS mediante fluorescencia se adicionaron, por duplicado, a 1 g de cada uno de los alperujos, 20 ml de CaCl_2 se agitó durante 15 minutos, se centrifugó a 8000 rpm durante 15 minutos y se filtraron las muestras en filtros de 0.45 μm , y por último, se midieron en un espectrofotómetro (F-2500 FL-Spectrophotometer HITACHI), con una longitud de onda de excitación de 254 nm. El espectro de emisión de fluorescencia se registró entre 300 y 480 nm, a una velocidad de barrido de 60 nm/min. Por otro lado, se acidificaron las muestras, añadiendo HCl 2N hasta alcanzar pH 2 y se midió la fluorescencia. Todos los espectros fueron normalizados a la unidad para ser comparados.

Asimismo se calculó el índice de humificación (IH) usando la expresión (Cox et al., 2000b):

$$IH = \frac{\sum_{\lambda=435}^{480} I_{\lambda}}{\sum_{\lambda=300}^{345} I_{\lambda}} \quad \text{Ec. III. 1}$$

donde λ es la longitud de onda en nanómetros y I_{λ} es la intensidad a una longitud de onda determinada.

La determinación del carbono orgánico en la MOS se llevó a cabo en un Analizador de Carbono Orgánico Total (TOC) y módulo de Nitrógeno modelo Shimadzu TOC-V sch. Para ello, por duplicado, a 1 g de ALP y ALPcom se le añadieron 20 ml de CaCl_2 0.01 M dejándose agitar durante 15 minutos. Posteriormente, las muestras se centrifugaron durante 20 minutos a 8000 rpm y, a continuación el sobrenadante se diluyó 100 veces para el análisis de las muestras.

III.2.4. Influencia de la adición de arcillas modificadas y alperujo en el comportamiento de herbicidas en suelos agrícolas

Este apartado resume la metodología desarrollada para evaluar los cambios producidos en el comportamiento de herbicidas en suelos agrícolas tras la adición a los suelos de arcillas modificadas y alperujos como enmiendas. En condiciones de laboratorio, se diseñaron diferentes experimentos dirigidos a evaluar el efecto de los adsorbentes en la adsorción, persistencia, lixiviación y bioeficacia de los herbicidas fluometurón, MCP-P y MCP-P-P en suelos. También se estudió la viabilidad de modificar “in situ” la arcilla del suelo, a través de la adición directa del catión orgánico espermina, y su efecto en el comportamiento del herbicida fluometurón. A escala de campo, se llevaron a cabo dos experimentos independientes para tratar de evaluar el efecto de la adición de una organoarcilla y un alperujo en la persistencia, movilidad y eficacia biológica de una formulación comercial compuesta por los herbicidas fluometurón y terbutilazina, bajo condiciones reales de campo.

III.2.4.1. Experimentos de laboratorio

III.2.4.1.1. Estudios de adsorción-desorción

III.2.4.1.1.1. Adsorción de los herbicidas a los adsorbentes

Estudio a concentración única. Con la finalidad de realizar una selección de los mejores adsorbentes para cada uno de los herbicidas estudiados (fluometurón, MCP-P y MCP-P-P) se llevó a cabo un estudio de adsorción de éstos a las organoarcillas y alperujos a una sola concentración. Para ello, por triplicado, 20 mg de adsorbente se pusieron en contacto durante 24 h a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ con 8 ml de una disolución de herbicida cuya concentración inicial (C_{ini}) fue de 1mg/l. Transcurrido el tiempo, las muestras se centrifugaron a 5000 rpm, se filtraron empleando filtros de fibra de vidrio (diámetro de poro de 0.45 μm) y se analizó la concentración de herbicida en la disolución de equilibrio, C_e (mg/l), por HPLC, según se describe en el apartado III.2.1. Al mismo tiempo, se llevó, por triplicado, un control con la disolución

inicial de herbicida sin adsorbente, para descartar posibles pérdidas de los herbicidas por procesos diferentes a la adsorción a los adsorbentes.

El porcentaje de herbicida adsorbido, % Ads, se calculó mediante la siguiente expresión:

$$\% Ads = \frac{(C_{ini} - C_e)}{C_{ini}} \times 100 \quad \text{Ec. III. 2}$$

La concentración de herbicida adsorbido, C_s (mg/kg), se calculó según la siguiente fórmula:

$$C_s = \frac{(C_{ini} - C_e)}{M} \times V \quad \text{Ec. III. 3}$$

donde:

C_s : es la cantidad adsorbida de herbicida (mg/kg).

C_{ini} : es la concentración inicial de herbicida (mg/l).

C_e : concentración de herbicida en la disolución de equilibrio (mg/l)

V : volumen de la disolución (l).

M : masa de adsorbente (kg).

Además, en estos casos en los que la adsorción se evaluó a una sola concentración inicial de herbicida, se calculó un coeficiente de distribución K_d (l/kg) definido como:

$$K_d = \frac{C_s}{C_e} \quad \text{Ec. III. 4}$$

Isotermas de adsorción-desorción. Para los alperujos y las organoarcillas que exhibieron mejores propiedades adsorbentes para cada uno de los herbicidas,

se obtuvieron las correspondientes isothermas de adsorción-desorción. Para la obtención de las isothermas de adsorción, se pesaron por triplicado 20 mg de adsorbente y se equilibraron mediante agitación, durante 24 h a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, con 8 ml de disolución de herbicida a distintas concentraciones iniciales ($C_{\text{ini}} = 0.1, 0.2, 1$ y 2 mg/l). Las suspensiones se centrifugaron y se retiraron 4 ml del sobrenadante, que se filtraron y analizaron por HPLC.

Las isothermas de desorción se obtuvieron inmediatamente después de la adsorción por el método de diluciones sucesivas, a partir del punto de mayor concentración inicial en la adsorción. Para ello, los 4 ml del sobrenadante extraídos para el análisis de la adsorción se reemplazaron por 4 ml de agua destilada, las muestras se resuspendieron y pusieron de nuevo en agitación durante 24 h a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, se centrifugaron y la concentración en equilibrio del herbicida (C_e) en el sobrenadante se analizó por HPLC. El proceso se repitió hasta un total de 3 ciclos de desorción.

Las isothermas de adsorción-desorción se obtuvieron representando la concentración de herbicida adsorbida, C_s , frente a la concentración de equilibrio, C_e , y se ajustaron a la ecuación de Freundlich:

$$C_s = K_f C_e^{N_f} \quad \text{Ec. III.5}$$

Para la modelización de las isothermas y obtención de los coeficientes de la ecuación de Freundlich, se realizó el ajuste lineal de las isothermas a la expresión logarítmica de dicha ecuación:

$$\log C_s = \log K_f + N_f \log C_e \quad \text{Ec. III.6}$$

siendo K_f y N_f las constantes empíricas de la ecuación de Freundlich.

III.2.4.1.1.2. Adsorción de los herbicidas en suelos enmendados y sin enmendar

Usando los alperujos y las organoarcillas que mostraron mayor afinidad para cada uno de los herbicidas, se enmendaron los suelos seleccionados para estudiar el efecto de la adición de los adsorbentes en la adsorción de los herbicidas. Para ello, se pesaron por triplicado muestras de 4 g de suelo y se enmendaron con los adsorbentes a diferentes porcentajes (0%, 1%, 2% y 5%). A continuación, se añadieron 8 ml de disolución de herbicida a una concentración inicial, C_{ini} , de 1 mg/l, se equilibraron las muestras durante 24 h a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, se centrifugaron y filtraron, finalmente se midió la concentración de herbicida en el sobrenadante por HPLC.

Las cantidades de herbicida adsorbido, C_s , en los suelos enmendados y sin enmendar, porcentajes de adsorción, % Ads, y coeficientes de distribución, K_d , se obtuvieron de la misma forma que se describe en el apartado anterior.

III.2.4.1.2. Estudios de persistencia

El estudio de la persistencia de los herbicidas en suelos enmendados y sin enmendar se llevó a cabo a través de experimentos de incubación en botes de vidrio de 500 ml de capacidad con 100 g de suelo (S1 ó S2) enmendado o sin enmendar y tratado con el herbicida a una dosis de 2 mg/kg (Fig. III.8). Tras rellenar los botes con los 100 g de suelo, se añadió el adsorbente seleccionado, a diferentes porcentajes del 0, 1, 2 ó 5%, y a continuación se aplicó el herbicida a una dosis de 2 mg/kg (equivalente a una dosis agronómica), bien como formulación comercial, para el caso de fluometurón, o como disolución acuosa del producto técnico, para los casos de MCPP y MCPP-P. El suelo se homogeneizó usando una espátula esterilizada y durante todo el experimento se mantuvo constante el contenido en humedad (40% para el suelo S1 y 30% para el suelo S2) añadiendo agua destilada cuando fue necesario. Los suelos se incubaron a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ en la oscuridad y, a tiempos seleccionados, se tomaron, por duplicado 3 g de muestra que se extrajeron para determinar su contenido en herbicida. La extracción se realizó agitando los 3 g

de suelo durante 24 h con 8 ml de metanol, en el caso de fluometurón, o de una mezcla metanol:H₃PO₄ diluido a pH 2 (70:30), en el caso de MCPP y MCPP-P. El análisis de los extractos se llevó a cabo por HPLC tras el filtrado de las muestras. Ensayos preliminares mostraron que el porcentaje de recuperación de los herbicidas para el procedimiento de extracción utilizado fue > 95%.



Figura III.8. Fotografía de los recipientes usados en los experimentos de incubación.

III.2.4.1.3. Estudios de lixiviación

Los estudios de lixiviación de los herbicidas se llevaron a cabo usando columnas de vidrio empaquetadas a mano de 30 cm de longitud y 3 cm de diámetro interno (Fig.III.9).

En la parte inferior de las columnas se colocó lana de vidrio y 10 g de arena de mar de grano grueso con el fin de evitar pérdidas de suelo y contaminación de los lixiviados. Posteriormente, se rellenó cada columna, en tramos de 5 cm y hasta completar un total de 20 cm de altura, con aproximadamente 160 g de suelo (S1 ó S2), enmendado o sin enmendar. El proceso se completó adicionando 10 g de arena en la parte superior para evitar la formación de canales de flujo preferencial y mejorar la distribución del herbicida durante su aplicación. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Para las organoarcillas, la enmienda de los suelos se llevó a cabo tratando los 10 g de suelo superficiales (1.25 cm) con el adsorbente al 0, 1, 2 ó 5%, lo que

equivalió a una dosis de 0, 1325, 2650 y 6625 kg/ha, respectivamente. Para los alperujos, además del procedimiento anterior, también se incrementó en algunos casos la dosis de enmienda utilizada, aplicando alperujo al 2 ó al 5 % en toda la columna, es decir, a dosis de 40 y 100 kg/ha, respectivamente.

Antes de aplicar el herbicida, las columnas se acondicionaron las columnas saturándolas con 90 ml de agua destilada. Tras 24 h, se recogió y midió el volumen de agua lixiviado para determinar el volumen de poro de cada columna, siendo éste la diferencia entre el volumen de agua adicionado y el recogido por percolación: 63 ± 1 ml para las columnas con suelo S1 y 56 ± 1 ml para las columnas con suelo S2. A continuación, se aplicaron los herbicidas a una dosis de 2 kg/ha, fluometurón como formulación comercial y MCPP y MCPP-P como disolución acuosa del producto técnico.

A las columnas se aplicaron diariamente 15 ml de agua destilada y cada día los lixiviados se recolectaron, filtraron y analizaron por HPLC para determinar la concentración de herbicida en los mismos.

Una vez finalizado el experimento, para determinar la cantidad residual de herbicida en las columnas de suelo, las columnas se dividieron en 4 porciones de 5 cm cada una correspondientes a diferentes profundidades (0-5, 5-10-10-15 y 15-20 cm). Se hicieron extracciones de los herbicidas en cada muestra como se ha descrito en el apartado III.2.4.1.2. y tras filtrar los extractos se analizó su contenido en herbicida por HPLC.

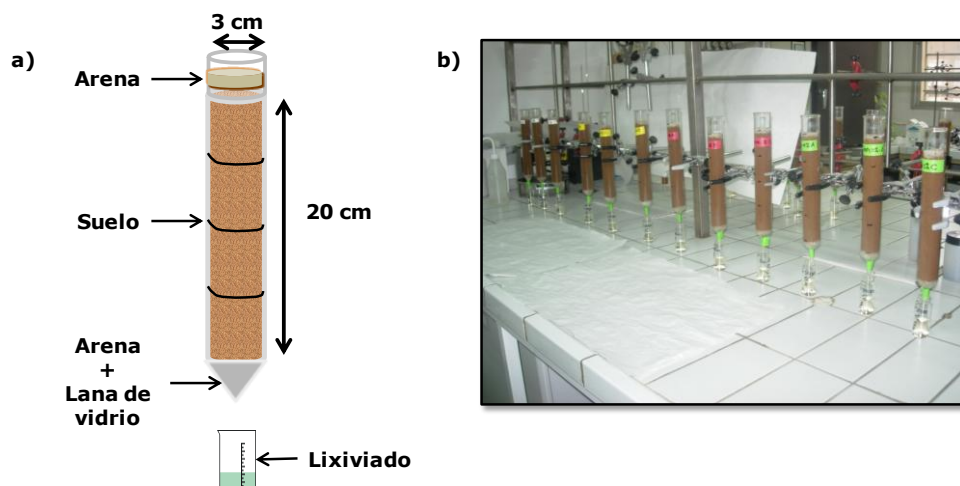


Figura III.9. Esquema de las columnas de suelo utilizadas para los experimentos de lixiviación (a) y fotografía de las columnas de suelo utilizadas durante uno de los estudios de movilidad (b).

III.2.4.1.4. Bioensayos: efectividad biológica

Los estudios de eficacia biológica de los herbicidas en los suelos enmendados llevados a cabo en el laboratorio se realizaron mediante bioensayos en macetas con semillas de jaramago, *Eruca vesicaria*, (Vilmorin, France). Se llevaron a cabo dos tipos de bioensayo, uno denominado general y un segundo en el que se trató de simular un episodio de intensas lluvias poco después de la aplicación del herbicida, constituyendo, por tanto, un escenario de alto riesgo de lixiviación.

III.2.4.1.4.1. Bioensayo general

Se utilizaron macetas de plástico de 32 cm² de superficie y 5 cm de altura, que se dispusieron sobre placas de petri por duplicado. En el fondo de las mismas (1 cm) se colocó lana de vidrio y 30 g de arena de mar gruesa para evitar pérdidas de suelo. A continuación, se relleno la base (2 cm) con 50 g del suelo seleccionado, completando la parte superior (2 cm) con 50 g de suelo enmendado con

organoarcilla o alperujo a diferentes porcentajes: 0% (control), 1%, 2% y 5% (Fig. III.10). Tras saturar las macetas con agua y dejarlas drenar durante 24 h, se sembraron 9 semillas de jaramago cubriéndolas con una pequeña capa de suelo para favorecer su germinación. Seguidamente, se adicionó fluometurón como formulación comercial en preemergencia a una dosis de 2 kg/ha. Las macetas fueron regadas diariamente con agua destilada para mantener constante el contenido en humedad. La eficacia biológica se determinó transcurridas dos semanas desde la aplicación del herbicida mediante un control visual del crecimiento de las plantas y posterior peso de la biomasa aérea germinada.

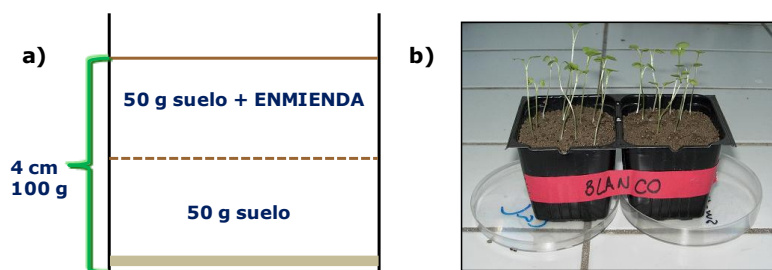


Figura III.10. Esquema de la maceta para el bioensayo general (a) y foto de las macetas empleadas para el mismo (b).

III.2.4.1.4.2. Bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación

Para el caso de fluometurón y MCPP se diseñó un bioensayo con el propósito de evaluar la capacidad de la organoarcilla SW-SPERM de reducir las pérdidas de herbicida por lixiviación, y por tanto de mejorar su eficacia, tras un período fuerte de precipitaciones poco después de la aplicación del producto, concretamente después de un aporte de agua equivalente a 60 l/m^2 inmediatamente después de la aplicación del herbicida. En este caso, se utilizaron macetas de 50 cm^2 , en las que se colocaron en el fondo lana de vidrio y 30 g de arena de mar, se adicionó 200 g de suelo S2, los 50 g superficiales enmendados con el adsorbente correspondiente

(organoarcilla o alperujo) en función del herbicida al 1% o bien sin enmendar (control) (Fig.III.11). A continuación, se aplicó el herbicida a una dosis de 2 kg/ha para fluometurón y 0.2 kg/ha para MCPP, e inmediatamente después 300 ml de agua destilada. Las macetas se dejaron drenar durante 4 días, transcurridos los cuales los lixiviados fueron recogidos y analizados por HPLC. Posteriormente, se sembraron 15 semillas de jaramago para fluometurón y berro (*Lepidium sativum*) para MCPP y tres semanas después se procedió a cortar y pesar la masa herbácea para evaluar la bioeficacia del herbicida en el suelo sin enmendar y enmendado.

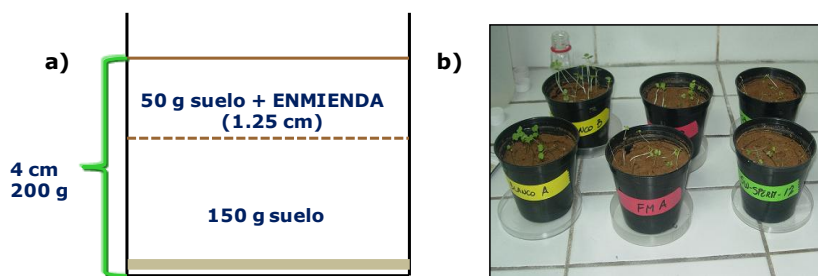


Figura III.11. Esquema de la maceta para el bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación (a) y foto de las macetas empleadas para el mismo (b).

III.2.4.1.5. Efecto de la adición del catión espermina en el comportamiento del herbicida fluometurón en suelos

Sobre la base de los resultados obtenidos con la organoarcilla SW-SPERM y su gran afinidad hacia el herbicida fluometurón, un apartado de esta memoria se dedicó a evaluar la posibilidad de modificar “in situ” los minerales esmectíticos de la arcilla del suelo a través de la adición directa del catión espermina y determinar los efectos de esta modificación en la adsorción, persistencia y lixiviación del herbicida fluometurón. El objetivo fue valorar la formación in situ de complejos órgano-arcillosos en el suelo como una estrategia alternativa a la adición de organoarcillas en el contexto de controlar el comportamiento de plaguicidas.

III.2.4.1.5.1. Experimento de adsorción

Se determinó el efecto de la adición de espermina a los suelos S1, S2, S3 y S4, en la adsorción de fluometurón a una concentración inicial de herbicida de 1 mg/l. Para, ello, se pesaron 4 g de cada suelo por triplicado a los que se añadieron 8 ml de una disolución acuosa de fluometurón 1 mg/l que también contenía una cantidad de espermina equivalente al 100% de la C.I.C. de cada suelo. Las muestras se dejaron en agitación durante 24 h a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, se centrifugaron y 4 ml de sobrenadante se retiraron y filtraron ($0.45 \mu\text{m}$) para determinar la concentración de equilibrio (C_e) del herbicida mediante HPLC. Muestras de suelo equilibradas con una disolución de fluometurón 1 mg/l libre de espermina sirvieron como controles. Se calculó el porcentaje de herbicida adsorbido (% Ads) y el coeficiente de distribución, K_d , según se describe en el apartado III.2.4.1.1.1. En el caso del suelo S1, el experimento se repitió a diferentes cantidades de espermina añadida, entre el 1% y el 100% de la CIC del suelo.

III.2.4.1.5.2. Experimento de lixiviación en columnas

Siguiendo una metodología similar a la descrita en el apartado III.2.4.1.3, se comparó la movilidad de fluometurón en los suelos S1 y S3 en presencia y en ausencia de espermina. Tras empaquetar las columnas con los suelos (160 g) y saturar con 90 ml de agua destilada, se aplicaron 6 ml de una disolución acuosa que contenía 0.15 mg de fluometurón (equivalente a 2 kg/ha) y catión espermina en una cantidad equivalente a la C.I.C. de los primeros 2.5 cm (20 g) de cada suelo. Paralelamente se prepararon columnas a las que se añadió el herbicida sin espermina. Diariamente se añadieron 15 ml de agua destilada en la parte superior de las columnas y los lixiviados se recogieron para ser filtrados y analizados por HPLC.

Tras el experimento se procedió a la extracción de las columnas para determinar la cantidad residual de fluometurón en las mismas tal y como se describe en el apartado III.2.4.1.3.

III.2.4.1.5.3. Experimento de incubación

La disipación de fluometurón en el suelo S1 influenciada por la presencia de espermina se estudió mediante un experimento de incubación en botes herméticamente cerrados con 100 g de suelo. Para ello, se añadió 40 ml de una disolución que contenía fluometurón equivalente a una dosis de 2 mg m.a./kg, bien libre de espermina bien con una cantidad de espermina (3.6 g) equivalente a 100 % la C.I.C. de la muestra de suelo. A continuación, se siguió la sistemática seguida que la descrita en el apartado III.2.4.1.2.

III.2.4.2. Experimentos de campo

Con el fin de estudiar la influencia de la adición de arcillas modificadas y residuos de almazara en la persistencia, lixiviación, escorrentía y eficacia biológica de los herbicidas fluometurón y terbutilazina en condiciones de campo, se diseñaron dos experimentos independientes llevados a cabo en parcelas de olivar de la finca experimental que el CSIC tiene en la localidad de Coria del Río (Sevilla). En uno de los experimentos se comparó el comportamiento de los herbicidas en dos parcelas, una tratada con la organoarcilla SW-SPERM y la otra sin tratar, y en el otro experimento se comparó el comportamiento de los herbicidas en una parcela tratada con el alperujo denominado ALPcam (ver apartado III.1.3.2) y otra sin tratar.

SW-SPERM se seleccionó por ser una de las organoarcillas con mejores propiedades adsorbentes para el herbicida fluometurón, mientras que ALPcam se eligió ya que podía ser obtenido en grandes cantidades para el experimento.

La selección de los herbicidas fluometurón y terbutilazina se realizó, en primer lugar, por ser utilizados conjuntamente como formulación comercial en el cultivo del olivar y, en segundo lugar, por ser fluometurón, uno de los herbicidas objeto de estudio de esta memoria y terbutilazina un herbicida para el que cabía esperar un comportamiento marcadamente diferente al de fluometurón, ya que se trata de un herbicida ampliamente estudiado en la bibliografía bajo condiciones de

campo, de elevada persistencia en suelos mediterráneos y con menor movilidad que fluometurón (Cabrera et al., 2008, 2009; López-Piñero et. al., 2011; Dolaptsoglou et al., 2010).

Las parcelas utilizadas para los estudios de campo tenían 4 m de longitud x 1 m de anchura, una pendiente aproximada del 5% y estaban separadas entre sí por una distancia de 5 m, cada una de las parcelas fue dividida en 4 subparcelas de 1 x 1 m para posterior tratamiento y toma de muestra. En cada parcela existía un depósito para recoger el agua de escorrentía procedente de la misma. La Figura III.12 muestra una fotografía de una de las parcelas utilizadas para los experimentos.

En el caso del experimento con ALPcam se utilizaron otras dos parcelas, una control, sin enmendar, y la otra enmendada con ALPcam a una dosis de 10 kg/m². La aplicación de los herbicidas se realizó el 27/11/2008.

En el experimento con SW-SPERM se utilizaron dos parcelas a una de las cuales se aplicó la organoarcilla a razón de 0.2 kg/m², dejando otra de las parcelas sin modificar, para comparar el comportamiento de los herbicidas. La aplicación de los herbicidas se realizó el 7/3/2011.

Hay que mencionar que en ambos experimentos se utilizó una parcela adicional, con las mismas características, a la cual no se aplicó ningún herbicida ni enmienda para ser utilizada como control.

En cada caso, tras la enmienda de las parcelas, se aplicó la formulación comercial de los herbicidas fluometurón y terbutilazina, a una dosis de 3 kg m.a./ha. Durante el tiempo que duró cada experimento se llevó un control de las temperaturas y precipitaciones ocurridas.

A tiempos seleccionados, se tomaron muestras del suelo y del agua de escorrentía procedente de las parcelas. Para el estudio de la lixiviación, se recogieron muestras de suelo a cuatro profundidades (0-5, 5-10, 10-20 y 20-30 cm) en cada una de las subparcelas en las que se habían previamente dividido las parcelas y se analizó el contenido de los herbicidas. Para ello, se extrajeron 5 g de

suelo por agitación con 10 ml de metanol durante 24 h, se centrifugó y se analizó la concentración de fluometurón y terbutilazina en el extracto metanólico por HPLC.

Para el estudio de la escorrentía, después de cada episodio de lluvia intensa, se procedió a la medida del volumen del agua de escorrentía en los depósitos y a la toma de muestra de la misma para su filtrado y posterior análisis de los herbicidas por HPLC, tanto en disolución, como asociados a las partículas en suspensión. Dado que las aguas de escorrentía procedían de las cuatro partes en las que habían sido divididas las parcelas, no es posible la comparación estadística entre tratamientos, por tanto, estos datos han de considerarse como preliminares. La determinación de fluometurón y terbutilazina en disolución se realizó tomando alícuotas de 25 ml por triplicado y posterior inyección directa de las mismas (previamente filtradas) en el equipo de HPLC, mientras que la determinación de los herbicidas asociados a las partículas se llevó a cabo por separación de éstas por filtración (0.45 μm) y posterior extracción del herbicida con metanol y análisis del extracto por HPLC.

Al finalizar los experimentos, se evaluó la eficacia de los herbicidas en las parcelas enmendadas y sin enmendar por pesada de la biomasa aérea presente en las mismas.

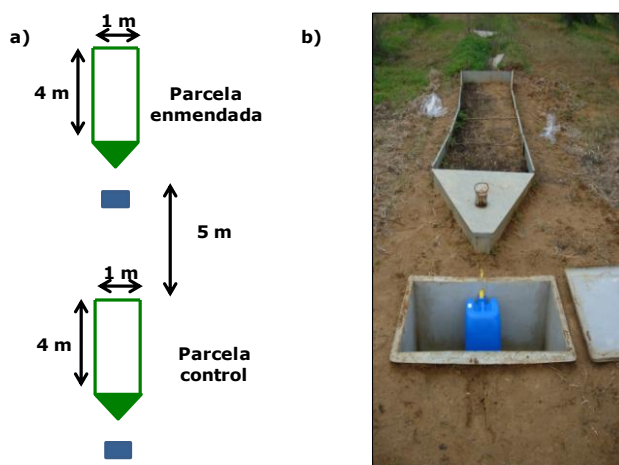


Figura III.12. Esquema de la disposición de las parcelas (a) y fotografía de una de las parcelas utilizadas en los experimentos de campo (b).



IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Caracterización de los suelos

En la Tabla IV.1 se muestran las principales características de los suelos utilizados en este trabajo. Como se ha mencionado previamente en el apartado III.1.2, todos los suelos se emplearon en los experimentos de laboratorio y el S2 también se correspondió con el suelo de las parcelas de los experimentos de campo.

Tabla IV.1. Características físico-químicas de los suelos utilizados. AR: arena; L: limo; A: arcilla; C.O.: carbono orgánico oxidable; C.I.C.; capacidad de intercambio catiónico.

Suelo	AR	L	A	CaCO ₃	C.O.	C.I.C.	pH
	----- % -----			-----		-- cmol _c kg ⁻¹ --	
S1	7	34	59	17.2	0.73	42	7.2
S2	73	8	19	1.0	0.52	20	7.2
S3	22	33	45	2.8	1.10	32	7.0
S4	83	7	10	6.5	0.54	15	7.4

Todos los suelos presentaron un pH (en KCl 1 M) cercano a la neutralidad (7.0-7.4) y un bajo contenido en carbono orgánico (0.52-1.10%), siendo esta última una característica habitual de los suelos mediterráneos. Probablemente como consecuencia de estos bajos contenidos en carbono orgánico, se obtuvo una elevada correlación ($r = 0.996$, $P < 0.01$) entre el contenido en arcilla de los suelos y la C.I.C., la cual osciló entre 15-42 cmol_c kg⁻¹. El contenido en carbonatos fue en general bajo (< 5%), excepto en el caso de los suelos S4 (6.5%) y S1 (17.2%).

La caracterización de los suelos se completó a través de medidas de porosidad, mediante la técnica de intrusión de mercurio, y la determinación de la mineralogía de la fracción arcilla, a partir de los difractogramas de rayos X de agregados orientados de las fracciones arcilla sometidas a diferentes tratamientos.

IV. Resultados y Discusión

En la Figura IV.1 aparecen las gráficas obtenidas tras las medidas de porosidad por intrusión de mercurio de los cuatro suelos. Las barras indican la contribución del intervalo de radio de poro correspondiente a la curva de volumen de poros acumulado durante la medición. Se puede observar que los suelos de textura más gruesa, S2 y S4, concentran mayor volumen relativo en la zona de mayor tamaño de poro, comprendida entre 10 y 100 μm . Por otro lado, S3 presenta una distribución de poro más homogénea, con tamaños de poro mediano y pequeño, y en S1 se observan dos máximos de volumen relativo, uno en el rango de 10-100 μm y otro por debajo de 0.01 μm , este último debido probablemente a la porosidad resultante de la agregación de partículas de arcilla, muy abundantes en el suelo S1. Estos resultados están en concordancia con lo descrito previamente en la bibliografía (Cox et al., 1994; Chung and Alexander, 1999; Aichberger et al., 2006), en cuanto reflejan una estrecha relación entre la textura de los suelos y la distribución de tamaños de poros. La textura más gruesa de S2 y S4 da lugar a un predominio de poros de mayor tamaño, mientras que la textura más fina de los suelos S1 y S3 se refleja en un aumento del volumen de poros de mediano y pequeño tamaño.

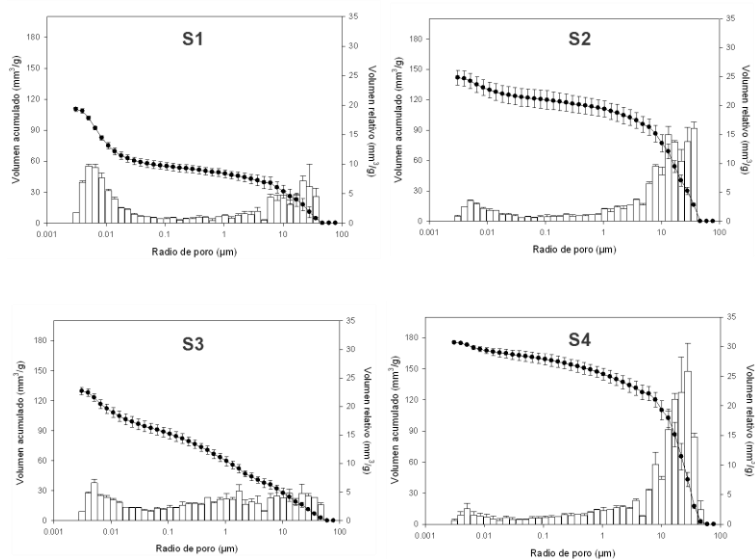


Figura IV.1. Distribución del tamaño de poros obtenida por intrusión de mercurio de los suelos S1, S2, S3 y S4.

La Figura IV.2 muestra los difractogramas de rayos X de las fracciones arcilla de los suelos sometidas a diferentes tratamientos y preparadas para el análisis en forma de agregados orientados. En todos los casos se observa la ausencia de un pico cercano a los 1.4 nm en las muestras saturadas con Mg^{2+} y posteriormente solvatadas con etilenglicol (Mg-EG), así como en las muestras saturadas con K^+ y calcinadas posteriormente a 550°C (K-550°C). Este hecho descarta la presencia de clorita en las muestras (White and Dixon, 2003; Calvaruso et al., 2009) y hace que las difracciones que aparecen a 1.7 nm, 1.0 nm y 0.7 nm en las muestras tratadas con Mg-EG se puedan atribuir a las reflexiones (001) de los filosilicatos montmorillonita, illita (o mica) y caolinita, respectivamente. De acuerdo con esto, el contenido relativo de cada uno de los filosilicatos en las fracciones arcilla de los suelos se estimó semicuantitativamente a partir de las áreas de los picos de difracción a 1.7 nm (montmorillonita), 1.0 nm (illita/mica) y 0.7 nm (caolinita), previa normalización de los mismos al poder reflectante de cada mineral, que se asumieron ser de 2 para montmorillonita, 0.5 para illita/mica y 1 para caolinita (Galán y Espinosa, 1974). Sobre la base de la ausencia de otras fases cristalinas en los difractogramas y el escaso contenido de los suelos en materia orgánica y óxidos de Fe y Al amorfos, se asumió también que los filosilicatos constituían el 100% de la composición de la fracción arcilla de los suelos (Kahle et al., 2002). Las difracciones adicionales observadas a 0.5 nm ($\sim 18^\circ 2\theta$) y 0.33 nm ($\sim 27^\circ 2\theta$) corresponden a las reflexiones (002) y (003) de illita, mientras que la difracción a 0.36 nm ($\sim 25^\circ 2\theta$) corresponde a la reflexión (002) de caolinita (Fig. IV.2). La baja intensidad de la reflexión (100) del cuarzo a 0.43 nm ($\sim 21^\circ 2\theta$) indicó cantidades muy pequeñas de este mineral en las fracciones arcilla.

Los resultados de los cálculos del contenido relativo de montmorillonita, illita y caolinita en las fracciones arcilla de los suelos se recogen en la Tabla IV.2. También se calculó el porcentaje absoluto de cada filosilicato en los suelos completos multiplicando su contenido en la fracción arcilla por el contenido de arcilla de cada suelo. Los resultados muestran que, a pesar de la abundancia de montmorillonita en las fracciones arcilla de los suelos S2 y S4, el bajo porcentaje de arcilla de estos suelos reduce significativamente la presencia de este mineral en los

IV. Resultados y Discusión

suelos completos (10% para S2 y 3 % para S4). Ilita es el filosilicato que predomina en S1 y S3, si bien S1 contiene además un alto contenido en montmorillonita (17%), mientras que la ausencia de pico a 1.7 nm en el difractograma Mg-EG de S3 indica ausencia total de montmorillonita en este suelo. Atendiendo al porcentaje global de montmorillonita en los suelos, éstos pueden ordenarse de la siguiente forma:

$$S1 (17\%) > S2 (10\%) > S4 (3\%) > S3 (0\%)$$

Tabla IV.2. Porcentajes relativos y absolutos de filosilicatos (M: montmorillonita; I: ilita/mica; K: caolinita) presentes en los suelos S1, S2, S3 y S4.

Suelo	Porcentaje relativo (%)			Porcentaje absoluto (%)		
	M	I	K	M	I	K
S1	28	57	15	17	34	9
S2	52	19	29	10	4	6
S3	0	88	12	0	40	5
S4	34	46	20	3	5	2

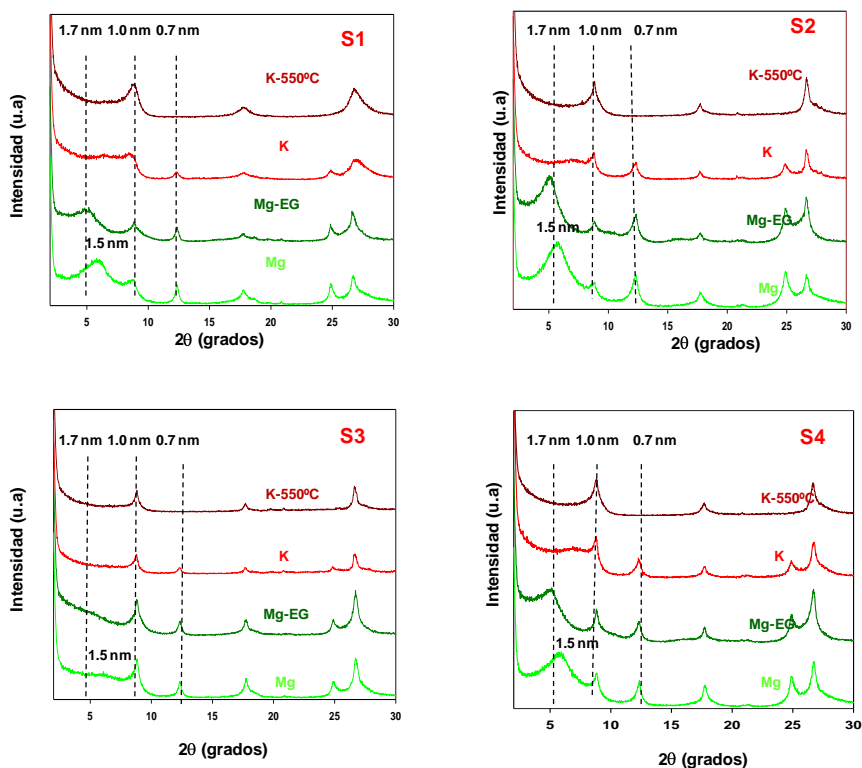


Figura IV.2. Difractogramas de los agregados orientados de las fracciones arcillas de los suelos S1, S2, S3 y S4, tras ser sometidas a diferentes tratamientos: saturadas en Mg^{2+} (Mg), saturadas en Mg^{2+} y a continuación solvatadas con etilenglicol (Mg-EG); saturados en K^+ (K) y saturados en K^+ y a continuación calcinadas a 550°C (K-550°C).

IV.2. Características de los adsorbentes usados como enmiendas

IV.2.1. Características de las arcillas modificadas

A continuación, se expone un resumen de las principales características de las organoarcillas empleadas durante el desarrollo de esta memoria. Estas organoarcillas habían sido previamente caracterizadas para anteriores investigaciones por nuestro grupo y los resultados de dicha caracterización pueden encontrarse en Celis et al. (2007) y Trigo (2010). En los apartados IV.2.1.1 y IV.2.1.2

se incluye una caracterización más detallada de los sistemas SW-SPERM y SA-HEXADIM, que se realizó en el contexto de la presente memoria por ser dos de las organoarcillas con mejores propiedades adsorbentes para los herbicidas estudiados.

Según se desprende de la Tabla IV.3, todos los cationes orgánicos fueron intercalados en ambas montmorillonitas. No obstante, los contenidos en catión orgánico de las organoarcillas confirman que los cationes orgánicos polares pequeños y monovalentes, como la carnitina y la tiramina, presentan una cierta resistencia a reaccionar con las esmectitas comparado con cationes orgánicos grandes y/o polivalentes, ya que los primeros se incorporaron en cantidades considerablemente inferiores a la C.I.C. de las montmorillonitas (Cruz-Guzmán et al., 2004, 2005). Dicha resistencia es más pronunciada cuando el catión inorgánico original a reemplazar presente en el mineral de la arcilla es divalente (Ca^{2+}) en vez de monovalente (Na^+) (Theng et al., 1967). Además, la presencia de grupos ionizables en carnitina ($-\text{COOH}$) y tiramina (Ph-OH) (Fig. III.5), susceptibles de producir repulsiones con las superficies con carga negativa del mineral de la arcilla, también podría haber dificultado la entrada de estos cationes en el espacio interlaminar de las arcillas.

Los espaciados basales de las muestras, obtenidos a partir de los diagramas de difracción de rayos X de de las mismas secadas a temperatura ambiente y tras calentar a 200 °C (Tabla IV.3), ratifican la presencia de los cationes orgánicos en la interlámina de las montmorillonitas. A temperatura ambiente se produce una disminución del espaciado basal de SWy-2 y SAz-1 tras la incorporación de la mayoría de los cationes (CAR, SPERM, HEXADIM, TYRAM y PTMA) que refleja un menor grado de hidratación del espacio interlaminar. Tras calentar a 200 °C, las montmorillonitas modificadas muestran resistencia al colapso que se produce típicamente en las montmorillonitas inorgánicas sin modificar y que dan como resultado un espaciado de aproximadamente 1 nm.

Tabla IV.3. Resultados del análisis elemental de las organoarcillas, porcentaje de la CIC de las montmorillonitas compensada por cationes orgánicos en las mismas y espaciados basales de las muestras a temperatura ambiente (T_{amb}) y calcinadas a 200 °C.

Organoarcilla	C	N	OcTS ^a	d ₀₀₁	
	----- % -----			T _{amb} ----- nm -----	200°C
SWy-2 (Blanco)	0.32 ± 0.01	<0.05	0	1.51	1.00
SW-CAR	4.10 ± 0.11	0.61 ± 0.01	61	1.42	1.20
SW-SPERM	2.86 ± 0.12	1.01 ± 0.08	96	1.30	1.24
SW-HEXADIM	5.78 ± 0.06	0.89 ± 0.01	88	1.40	1.38
SW-TYRAM	4.42 ± 0.01	0.63 ± 0.01	62	1.44	1.29
SW-PTMA	6.70 ± 0.06	0.82 ± 0.01	82	1.46	1.44
SW-HDTMA	14.84 ± 0.02	0.84 ± 0.01	93	1.80	1.80
SAz-1 (Blanco)	<0.1	<0.05	0	1.52	-- ^b
SA-CAR	4.10 ± 0.01	0.64 ± 0.01	41	1.48	-- ^b
SA-SPERM	3.78 ± 0.02	1.55 ± 0.01	96	1.30	1.25
SA-HEXADIM	8.52 ± 0.04	1.36 ± 0.01	88	1.42	1.40
SA-TYRAM	5.28 ± 0.12	0.79 ± 0.05	50	1.50	-- ^b
SA-PTMA	9.58 ± 0.07	1.19 ± 0.01	79	1.50	1.50
SA-HDTMA	22.50 ± 0.01	1.29 ± 0.01	101	2.40	2.22

^aOcTS: grado de saturación en catión modificador, porcentaje de la capacidad de intercambio catiónico de la montmorillonita ocupada por cationes modificadores (calculada a partir del contenido en N). ^b difracción basal no definida.

Los bajos valores de d₀₀₁ (1.2-1.5 nm) para las muestras modificadas con los cationes orgánicos espermina, hexadimetrina, tiramina y carnitina son coherentes con el pequeño tamaño de la tiramina y carnitina, y sugieren la ordenación de la espermina y hexadimetrina, de mayor tamaño, formando una monocapa horizontal entre las láminas de la arcilla (Jaynes y Boyd, 1991b; Lagaly, 1982; Roberts et al., 2006).

Los valores de d₀₀₁ obtenidos para las montmorillonitas intercambiadas con PTMA y HDTMA (Tabla IV.3) están de acuerdo con valores publicados previamente

para estas organoarcillas (Jaynes y Boyd, 1991a,b; Roberts et al., 2006). En las interláminas de SWy-2 y SAz-1, el catión PTMA existe como especies discretas, dando como resultado un espaciado basal de aproximadamente 1.4-1.5 nm. El catión HDTMA forma bicapas ($d_{001} \approx 1.8$ nm) en montmorillonitas de baja carga laminar, tales como SWy-2, y una estructura parafínica ($d_{001} \approx 2.4$ nm) en la montmorillonita SAz-1 de alta carga laminar (Tabla IV.3).

En la Tabla IV.4 se recogen las principales bandas identificadas en los espectros de FTIR de los cationes orgánicos empleados para la modificación de las montmorillonitas tanto en forma libre como incorporados al mineral. La caracterización de las organoarcillas por espectroscopía FT-IR reveló la presencia de nuevas bandas en los espectros de infrarrojos de las montmorillonitas modificadas, respecto a las arcillas sin tratar (blancos), poniendo de manifiesto la presencia de los cationes orgánicos en las muestras (Cruz-Guzmán et al., 2004; Celis et al., 2007). También se observó un descenso en la intensidad de la banda correspondiente al agua de hidratación de las organoarcillas respecto a las arcillas inorgánicas reflejando la presencia de cationes orgánicos poco hidratados en las organoarcillas. El desplazamiento de algunas de las bandas correspondientes a los cationes orgánicos tras su interacción con las montmorillonitas indicó la participación de los grupos correspondientes en la interacción con el mineral (Trigo, 2010).

En consonancia con lo publicado previamente sobre el comportamiento térmico de complejos organoarcillosos (Yariv, 2004; Xi et al., 2004, Celis et al., 2007), el análisis térmico de las organoarcillas puso de manifiesto la descomposición térmica de las mismas en tres etapas fundamentales. El primer paso de pérdida de masa se observó a una temperatura próxima a 100°C y se atribuyó a la deshidratación del agua adsorbida en la arcilla y en el catión interlaminar. La segunda pérdida de masa comprendida entre 200 y 550°C se puede asignar a la pérdida del catión orgánico. La magnitud de esta segunda pérdida de masa estuvo relacionada directamente con el contenido de las muestras en carbono orgánico: SW-HEXADIM > SW-TYRAM > SW-SPERM > SWy-2 (Blanco). El tercer paso de pérdida de masa se relaciona con la deshidroxilación del mineral y tuvo lugar a un

rango de temperatura comprendido entre 550 y 700°C (Celis et al., 2007; Trigo, 2010).

Tabla IV.4. Principales bandas y asignación de las mismas obtenidas de los espectros de FTIR de los cationes orgánicos libres e incorporados en las montmorillonitas.

Cati3n Org3nico	Bandas	Asignaci3n	
		Cati3n libre	Cati3n adsorbido
		----- cm ⁻¹ -----	
CAR	VO-H	2970	--
	VC ^{OO} H	1727	1727
	VC-N + δ _{C-H}	1482	1482
SPERM	ν _{N-H} + ν _{C-H}	3125; 2950; 2860; 2770	3025; 2875; 2830
	δ _{N-H} + δ _{C-H}	1597; 1498	1475
HEXADIM	ν _{C-H}	3020; 2950; 2870	2960; 2870
	δ _{C-H}	1485; 1425	1490; 1420
TYRAM	ν _{N-H} + ν _{O-H}	3090	3280
	ν _{C-H} arom	3018; 2942	3030
	ν _{C-H} alif	2920; 2810	2900
	ν _{C-C} arom	2810; 1600; 1500	2832; 1520
	δ _{C-H} alif	1462	1460
	ν _{C-O}	1355	--
	δ _{O-H}	1220	1220

A continuación, con el fin de establecer y evaluar el comportamiento a nivel molecular de las organoarcillas utilizadas, se llevó a cabo un estudio pormenorizado de los sistemas SW-SPERM y SA-HEXADIM, por ser éstas de especial interés dado que revelaron las mejores propiedades de adsorción para los herbicidas empleados en el desarrollo de esta memoria.

IV.2.1.1. Caracterización del sistema SW-SPERM

La organoarcilla SW-SPERM mostró óptimas propiedades adsorbentes para el herbicida fluometurón, tal y como se desarrollará en el apartado IV.3.1, y su caracterización se detalla a continuación.

Difracción de Rayos X

Los difractogramas de los films de SWy-2 tratados con distintas cantidades de espermina, se muestran en la Figura IV.3. El espaciado basal (d_{001}) correspondiente a la muestra SWy-2 secada al aire y sin tratar con catión orgánico fue de 1.27 nm (Fig. IV.3.A), espaciado que es coherente con la existencia de una capa de moléculas de agua de hidratación para el catión Na^+ en la interlámina (Chiperá y Bish, 2001; Johnston, 2010; Gautier et al., 2010). Para las muestras tratadas con mayor cantidad de espermina (0.9 y 1.2 CIC) se obtuvieron espaciados basales de 1.29 nm. Este valor es menor al encontrado por otros autores para montmorillonitas intercaladas con cationes tipo alquilamonio (Jordan, 1949; Lagaly, 1981; Serratosa et al., 1984), pero igual al encontrado por Celis et al. (2007) para una muestra similar. Asimismo, para estas cantidades de espermina, los picos d_{001} muestran una difracción basal intensa, reflejando estructuras bien ordenadas, no ocurriendo lo mismo para las muestras con menor cantidad de espermina añadida, las cuales mostraron espaciados basales mayores que SWy-2, entre 1.42 y 1.47 nm (Fig. IV.3A). Este resultado puede indicar que a bajas cantidades de catión orgánico en la arcilla se originan estructuras en las que se dificulta la deshidratación de los cationes Na^+ residuales presentes en el espacio interlaminar.

Los valores de los espaciados basales para los films saturados en agua se muestran en la Figura IV.3B. Se observan valores de d_{001} en torno a 1.45 nm para bajas cantidades de espermina añadida, lo que apunta a la existencia de dos capas de moléculas de agua asociadas al catión inorgánico interlaminar. El hecho de que, a contenidos elevados de catión orgánico, el espaciado basal se mantenga constante (1.29 nm) después de la saturación con agua, pone de manifiesto que los cationes espermina impiden la expansión de las láminas de arcilla. Este resultado puede ser indicativo de la elevada atracción entre los cuatro grupos amino

protonados de la espermina y la superficie cargada negativamente de la arcilla. Un comportamiento similar ha sido observado por distintos autores para sistemas arcilla-compuestos nitroaromáticos (Li et al., 2004; Sheng et al., 2002).

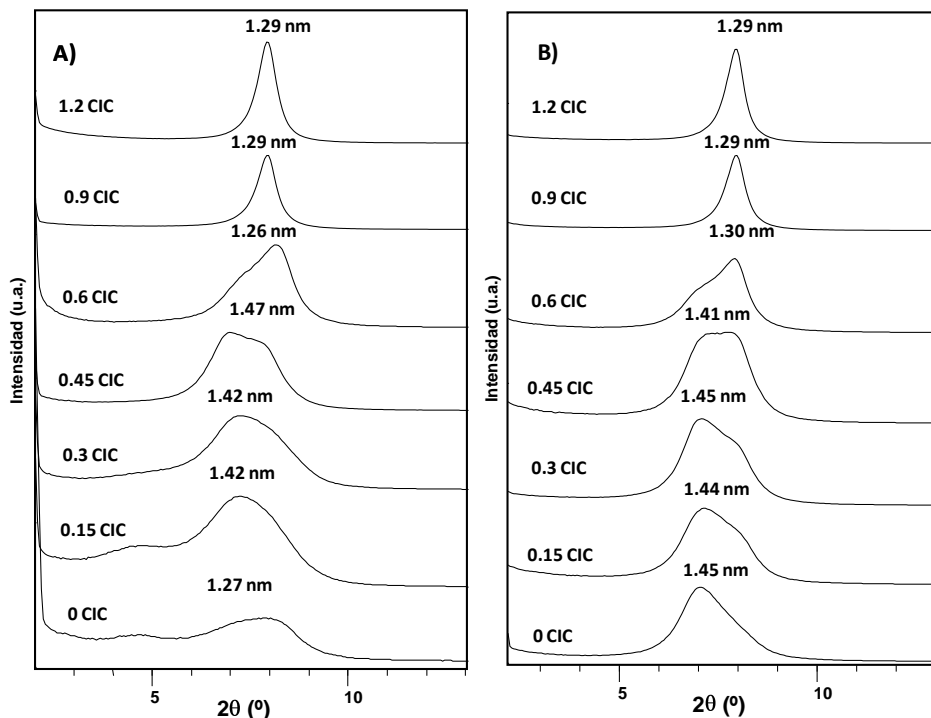


Figura IV.3. Diagramas de difracción de rayos X de los films sintetizados correspondientes a SWy-2 tratada con diferentes cantidades de espermina desde 0 a 1.2 x CIC: A) para los films secados al aire y B) para los films saturados en agua.

Análisis Termogravimétrico (TG)

La curva TG adquirida para la muestra sin tratar de SWy-2 se caracteriza básicamente por dos pérdidas de masa (Fig. IV.4): la primera de ellas alrededor de los 100 °C y con un pequeño hombro a 135 °C, que se debe a la pérdida de agua interlamilar o de hidratación y la segunda sobre los 700 °C, debida a la deshidroxilación de la lámina de arcilla (Xi et al., 2005). Por otro lado, la descomposición de SWy-2 tratada con espermina tuvo lugar en tres etapas (Fig. IV.4), lo que está de acuerdo con trabajos previos sobre la descomposición térmica de organoarcillas (Yariv, 2004; Celis et al., 2007; Lapidés et al., 2011). En la primera

etapa se produce la pérdida de masa de agua de hidratación a la misma temperatura que para la montmorillonita sin tratar, alrededor de 100 °C. Es notorio que esta pérdida fue gradualmente decreciendo conforme el contenido de espermina aumentaba, desapareciendo el hombro a 135 °C, lo que indica que la espermina se encuentra en la interlámina menos hidratada que el catión Na^+ . La segunda pérdida de masa, localizada entre los 200 y 550 °C, se puede asignar a la pérdida de cationes orgánicos. Para las muestras de montmorillonitas tratadas con espermina, esta etapa ocurre a una temperatura considerablemente más elevada (~475 °C) que para el catión en forma de clorhidrato (~ 375 °C), indicando que las láminas de arcilla protegen a la espermina de la descomposición térmica. Finalmente, la pérdida de masa observada por encima de los 550 °C se atribuye a la deshidroxilación de las láminas de arcilla. Dicha descomposición se vio afectada incluso a bajas cantidades de espermina presentes en la interlámina, produciéndose un descenso de la temperatura a la que tuvo lugar (Fig. IV.4). Es interesante destacar que se observó una buena relación lineal entre la cantidad de espermina adicionada para la síntesis de los films y la calculada a partir de la segunda pérdida de masa de las curvas de TG, si bien hay que señalar que para las muestras con mayor cantidad de espermina pudo haberse sobreestimado el valor de ésta, debido al solapamiento entre las etapas de pérdida de catión orgánico y de deshidroxilación de la lámina de arcilla (Fig. IV.4).

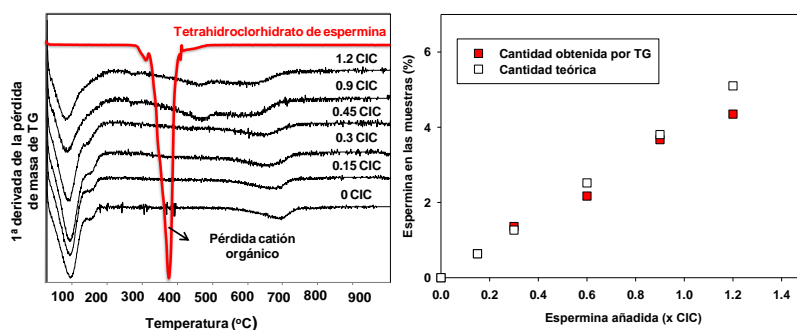


Figura IV.4. Primera derivada obtenida a partir de las curvas de TG para la pérdida de masa de tetrahidroclorhidrato de espermina y SWy-2 tratada con diferentes cantidades de espermina (izquierda) y la relación lineal entre la cantidad de espermina añadida durante la síntesis y la obtenida en las muestras por TG (derecha).

Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

Las zonas del espectro de FTIR más relevantes de los films de montmorillonita SWy-2 tratada con distintas cantidades de espermina se recogen en la Figura IV.5. Todos los espectros fueron normalizados a la banda correspondiente al modo de tensión de los grupos OH estructural de la montmorillonita, $\nu(\text{OH})$ a 3631 cm^{-1} , que se usó como patrón interno. Hay que resaltar que se produjo un desplazamiento en la posición de esta banda hacia números de onda menores a medida que aumentaba la saturación de la arcilla en espermina (Fig. IV.5A), lo que presumiblemente ocurrió debido a la interacción del catión con las láminas de SWy-2 y que podría explicar el efecto de la espermina en la temperatura de deshidroxilación de la arcilla observado en el estudio termogravimétrico. La banda ancha que aparece en los espectros cerca de 3400 cm^{-1} (Fig. IV.5A) corresponde al modo de tensión de O-H del agua adsorbida, observándose que la intensidad de esta banda se redujo con la cantidad de espermina presente en las muestras, por la menor hidratación de las muestras SW-SPERM. Las bandas de los espectros comprendidas entre 3125 y 2770 cm^{-1} (Fig. IV.5A) se pueden atribuir a las vibraciones de tensión de N-H de los grupos protonados de la espermina, $-\text{NH}_3^+$ y $-\text{NH}_2^+$, así como a las vibraciones de tensión de C-H de los grupos $-\text{CH}_2-$ de la espermina, mientras que el grupo de bandas que se identifican entre 1595 y 1455 cm^{-1} (Fig. IV.5B) puede asignarse a los modos de deformación de los grupos N-H y C-H del catión orgánico (Celis et al., 2007). En esta región, las bandas registradas fueron anchas y desplazadas respecto a su posición en el espectro de la espermina pura, lo que sugiere la participación de estos grupos en la interacción entre el catión orgánico y las láminas de arcilla. Concretamente, la posición de la banda a 1525 cm^{-1} en los espectros de las muestras SW-SPERM de la Figura IV.5B concuerda con valores previamente encontrados para los modos de deformación de N-H de grupos amino protonados interaccionando con la superficie de montmorillonita (Darder et al., 2003; Monvisade y Siriphannon, 2009). Por otra parte, es interesante señalar que la integración de las bandas identificadas entre 1575 y 1375 cm^{-1} dio como resultado una buena relación lineal entre las áreas registradas y la cantidad de espermina en las muestras hasta alcanzar 0.9 veces la CIC de la montmorillonita (Fig. IV.7),

IV. Resultados y Discusión

confirmando así la elevada afinidad de la espermina por la montmorillonita SWy-2 hasta cantidades próximas a su capacidad de intercambio catiónico.

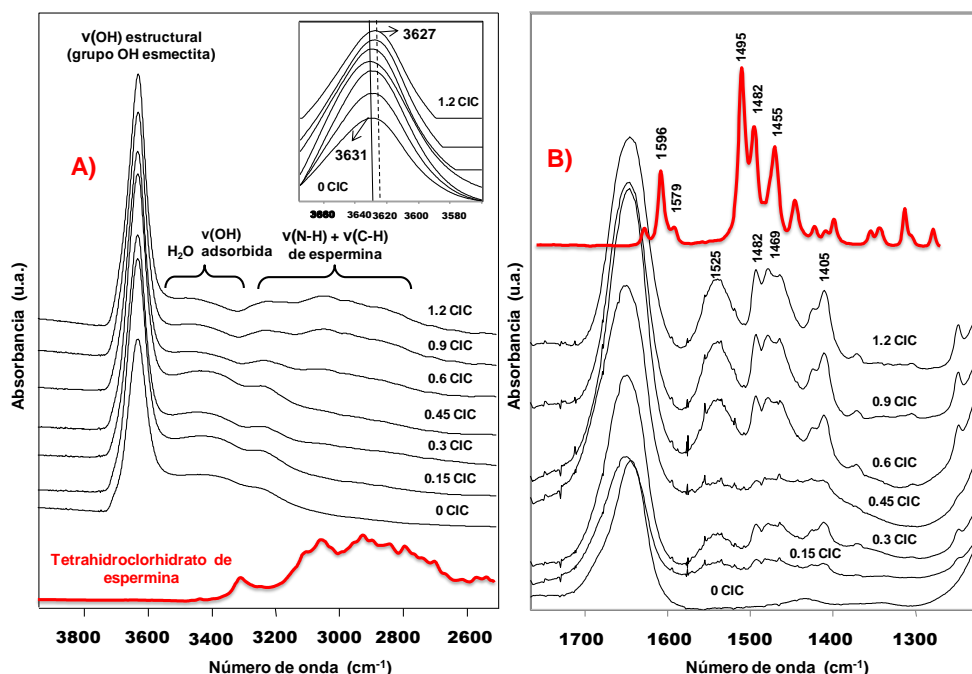


Figura IV.5. Espectros de FTIR de tetraclorhidrato de espermina y SWy-2 tratada con espermina en las siguientes regiones: a) región para los modos de tensión de N-H y C-H de espermina y modos de tensión del grupo OH del agua adsorbida a la montmorillonita. B) región que comprende las bandas de los modos de deformación de los grupos N-H y C-H de espermina. En el cuadro superior de la figura A) se muestra la banda del modo de tensión para el OH estructural de SWy-2.

Medidas “in situ” de Reflectancia Total Atenuada-FTIR (ATR-FTIR)

Estas medidas se llevaron a cabo con el fin de completar la caracterización del sistema SW-SPERM. En la Figura IV.6 se muestran los espectros registrados en este experimento. Las Figuras IV.6A, B y C se corresponden con los espectros in situ ATR-FTIR de agua, SWy-2 en agua y SWy-2 después de las sucesivas adiciones de la disolución de máxima concentración de espermina, respectivamente. Las bandas más destacadas en estos espectros se corresponden con los modos de tensión ($\sim 3500\text{ cm}^{-1}$) y de flexión (1639 cm^{-1}) de O-H del agua. También son visibles

en los espectros IV.6B y IV.6C las bandas atribuibles a la tensión $\nu(\text{Si-O})$ de las láminas de arcilla. Para el tratamiento de los espectros se aplicó la técnica de sustracción de espectros, con el fin de evaluar las modificaciones en las bandas de absorción de SWy-2 tras la adsorción de espermina. Así, las Figuras IV.6D y IV.6E se corresponden, respectivamente, con el depósito de SWy-2 en agua y el depósito de SWy-2 tras las adiciones de las distintas disoluciones de espermina, después de restar la señal de agua.

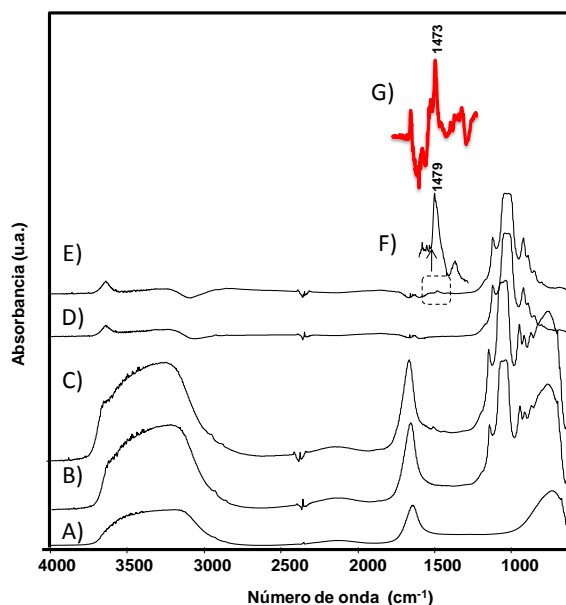


Figura IV.6. Relación de espectros obtenidos a partir de ATR-FTIR: A) H_2O , B) depósito de SWy-2 en agua, c) depósito de SWy-2 saturado con espermina, D) depósito de SWy-2 restando el agua, E) depósito de SWy-2 saturado con espermina restando el agua, F) vista ampliada del espectro E), que muestra la banda de espermina adsorbida en la arcilla, G) disolución acuosa de espermina 30 mM en la celda de ATR-FTIR.

El espectro de la Figura IV.6F muestra una ampliación del espectro IV.6E en la región de los modos de deformación de N-H y C-H de la espermina, identificado a 1479 cm^{-1} , mientras que el espectro IV.6G muestra la región del espectro de la disolución de espermina a 30 mM en la celda de ATR-FTIR, donde la misma banda apareció a 1473 cm^{-1} . Por tanto, tiene lugar un desplazamiento de la banda, demostrando la interacción de la espermina con las láminas de arcilla. El área de la

banda se cuantificó y representó en función de la cantidad de espermina añadida a la arcilla (Fig. IV.7), observándose cómo la curva alcanza un *plateau* aproximadamente a la CIC de la arcilla, lo que es congruente con el resultado obtenido en el análisis de los films y al obtenido previamente por Celis et al. (2007). Probablemente, el límite de intercalación de catión orgánico se deba a la saturación de la arcilla al alcanzar su CIC. En este sentido, el análisis “in situ” mediante la técnica ATR-FTIR no sólo proporcionó información cualitativa de la modificación de la arcilla con espermina, sino que también proporcionó información cuantitativa consistente con los resultados del análisis de los films mediante FTIR (Fig. IV.7).

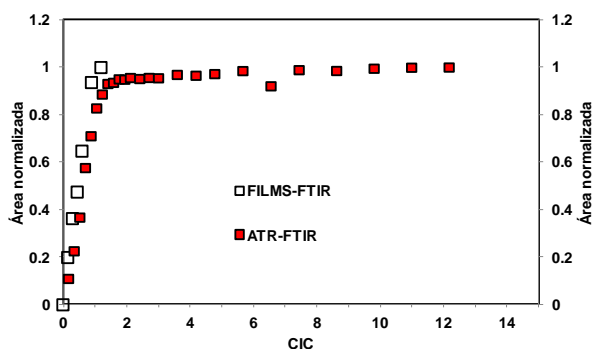


Figura IV.7. Relación obtenida para las áreas correspondientes a los modos de deformación N-H y C-H de espermina respecto a la cantidad de catión añadido a SWy-2. Comparación de las áreas obtenidas en los films y durante el experimento de ATR-FTIR. Todas las áreas fueron normalizadas respecto al valor obtenido para la muestra con mayor cantidad de espermina añadida (1.2 x CIC de la arcilla).

Modelización del Sistema

El modelo de dinámica molecular empleado para describir el sistema SW-SPERM indicó que la disposición más favorable de los cationes espermina en la interlámina de la arcilla sitúa a los cationes de forma casi paralela a las láminas, de modo que los grupos NH_3^+ y NH_2^+ de la espermina se introducen en las cavidades ditrigonales de la arcilla, estableciendo fuertes interacciones a través de enlaces de hidrógeno con los átomos de oxígeno de la capa tetraédrica de la arcilla (Fig. IV.8).

El diámetro de estas cavidades ditrigonales se aproxima al tamaño del ion NH_4^+ (Johnston y Tombàcz, 2002), lo que podría haber favorecido y reforzado la interacción entre la arcilla y la espermina. En este caso, para el sistema completamente deshidratado, el modelo predice un espaciado basal (d_{001}) cercano a 1.15 nm, de forma que el valor de 1.29 nm obtenido experimentalmente para los films es razonable si asumimos la presencia de algunas moléculas de agua en el espacio interlaminar. Serratosa et al. (1984) encontraron un valor similar de espaciado basal (1.32 nm) para una vermiculita intercalada al 50% de su CIC con cationes butilamonio, donde los grupos NH_3^+ terminales de éstos también encajaban en las cavidades ditrigonales de la arcilla. Celis et al. (2007) observó que para muestras de SWy-2 saturadas con catión espermina, el valor del espaciado se reducía a 1.24 nm tras calentar las muestras a 200 °C, lo que se aproxima al valor de 1.15 nm predicho para el sistema completamente deshidratado.

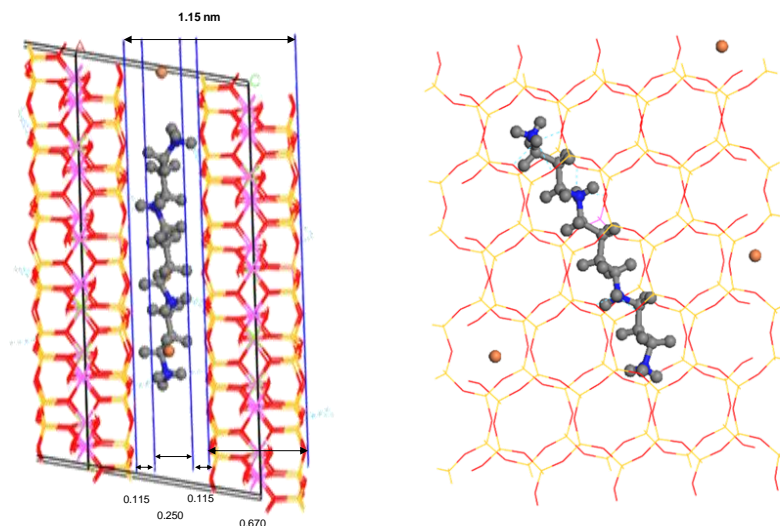


Figura IV.8. Representación esquemática de la posible disposición del catión espermina en el espacio interlaminar de SWy-2 bajo condiciones de deshidratación. Las distancias se dan en nm.

Teniendo en cuenta que la densidad de carga superficial de SWy-2 es de $1.07 \text{ mmol}_c \text{ por m}^2$, la distancia entre dos cargas adyacentes en espermina ($0.5\text{-}0.6 \text{ nm}$, Fig. IV.9) sería más corta que la distancia media entre dos cargas permanentes adyacentes en una lámina de SWy-2 ($\sim 1.4 \text{ nm}$). No obstante, debido a que las capas de la montmorillonita se apilan unas sobre otras, la densidad de carga superficial efectiva se incrementaría un factor de dos y la distancia promedio entre dos cargas negativas en la arcilla (0.7 nm) se ajustaría bastante a la de la espermina. De esto se puede inferir que el catión espermina podría compensar dos cargas situadas en dos capas de arcilla enfrentadas. Es necesario señalar además que las sustituciones isomórficas de SWy-2 ocurren en la capa octaédrica, por ejemplo, Mg^{2+} por Al^{3+} , generando un déficit de carga que se deslocaliza entre ocho átomos de oxígeno basales de la capa tetraédrica, es decir, alrededor de una distancia de unos 0.7 nm (Johnston, 2010). Este hecho hace que la distribución de carga de SWy-2 sea razonablemente compatible con la distancia entre cargas del polication espermina lo que reforzaría la idea de que la espermina puede establecer una fuerte interacción con las láminas de arcilla, reduciendo la distancia interlaminar en comparación con los valores encontrados previamente para montmorillonitas intercaladas con cationes alquilamonio (Jordan, 1949; Lagaly, 1981; Serratosa, 1984).

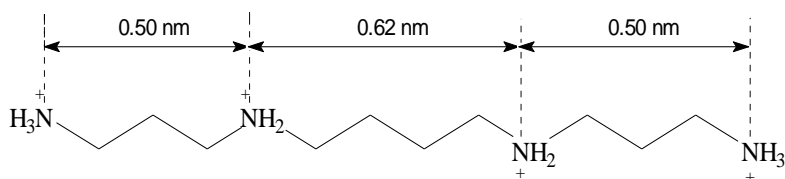


Figura IV.9. Disposición y distancia entre las cargas del catión espermina.

IV.2.1.2. Caracterización del sistema SA-HEXADIM

La organoarcilla SA-HEXADIM presentó óptimas propiedades adsorbentes para los herbicidas MCPP y MCPP-P; por ello, se llevó a cabo un estudio más profundo para su caracterización.

Difracción de Rayos X

Los difractogramas de las muestras de SAz-1 tratadas con distintas cantidades de hexadimetrina, se muestran en la Figura IV.10. El espaciado basal (d_{001}) correspondiente a la muestra SAz-1 secada al aire y sin tratar con catión orgánico fue de 1.27 nm (Fig. IV.10A), igual que el de SWy-2 con espermina, lo que es coherente con la existencia de una capa de moléculas de agua de hidratación para el catión interlamilar. Este valor es menor que los encontrados en la bibliografía para esta montmorillonita (Jaynes y Boyd, 1991a; Wang et al., 2010). Paralelamente, a medida que se aumentó la cantidad de hexadimetrina añadida, aumentó el espaciado basal, de manera que las muestras tratadas con mayor cantidad de hexadimetrina, 1.1 y 1.5 CIC, dieron lugar a espaciados basales de hasta 1.41 nm. Este valor es menor al encontrado por otros autores para montmorillonitas intercaladas con cationes del tipo alquilamonio, como es HDTMA (Jaynes y Boyd, 1991b), pero similar al encontrado por Celis et al. (2007) para el mismo catión intercalado en SAz-1. Igualmente, a mayores cantidades de hexadimetrina las difracciones basales fueron más intensas y definidas, lo que es indicativo de estructuras ordenadas. Por el contrario, la montmorillonita sin modificar y la modificada con catión orgánico a 0.2 CIC dieron lugar a difracciones mal definidas, posiblemente porque la elevada carga de SAz-1 produce una distribución heterogénea de las láminas de arcilla (Cruz-Guzmán et al., 2005; Celis et al., 2007).

Los valores de los espaciados basales para las muestras saturadas en agua se muestran en la Figura IV.10B. En este caso, el comportamiento del sistema SA-HEXADIM fue similar al observado para SW-SPERM, ya que se registraron difractogramas con valores de d_{001} en torno a 1.50 nm para bajas cantidades de hexadimetrina adicionada, lo que es típico de la existencia del catión interlamilar hidratado con dos capas de moléculas de agua (Wang et al., 2010). Al mismo tiempo, cuando la cantidad añadida de catión orgánico estuvo próxima a la CIC, el espaciado basal se mantuvo constante alrededor de 1.41 nm, lo que hace pensar de nuevo que los cationes hexadimetrina están fuertemente unidos a las láminas de SAz-1 y, al igual que se obtuvo para espermina en SWy-2, impiden la expansión de las láminas de arcilla.

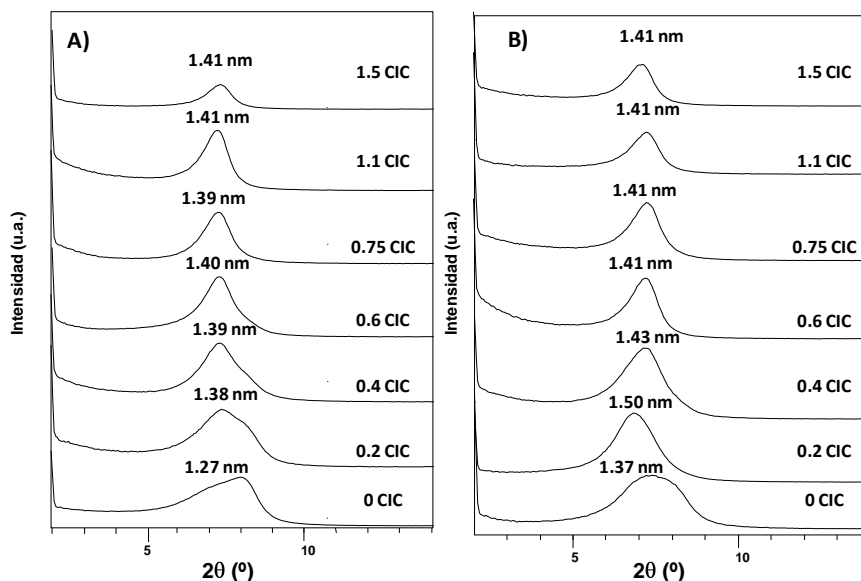


Figura IV.10. Diagramas de difracción de rayos X de las muestras sintetizadas correspondientes a SAz-1 tratada con diferentes cantidades de hexadimetrina desde 0 a 1.5 x CIC: A) para las muestras secadas al aire y B) para las muestras saturadas en agua.

Análisis Termogravimétrico (TG)

La Figura IV.11 recoge las curvas de la 1ª derivada de TG de la montmorillonita SAz-1 sin tratar y tratada con diferentes cantidades de hexadimetrina. SAz-1 presenta el mismo patrón de descomposición que el observado para SWy-2, de tal manera que se distinguen dos pérdidas de masa características (Fig. IV.11), la primera de ellas alrededor de los 130 °C con un pequeño hombro en torno a 200 °C que se debe a la pérdida de agua interlaminar o de hidratación, y la segunda sobre los 650 °C, que se atribuye a la deshidroxilación de la lámina de arcilla (Xi et al., 2005). Es de suponer que la temperatura más elevada para la pérdida de agua para el caso de SAz-1 se debe a que el catión interlaminar es más difícil de deshidratar, presentando valores más elevados de entalpía de hidratación (Sheng et al., 2001; Li et al., 2006). La descomposición de SAz-1 tratada con hexadimetrina sucedió en las tres etapas típicas descritas para las organoarcillas, tal y como se observó para el sistema SW-SPERM. La primera

pérdida de masa, debida al agua de hidratación, ocurrió a temperaturas menores conforme aumentó el contenido en catión orgánico, al mismo tiempo que desapareció el hombro cercano a 200 °C (Fig. IV.11), indicando que hexadimetrina se encuentra en la interlámina menos hidratada que el catión inorgánico de partida. La segunda pérdida de masa, localizada entre los 200 y 550 °C, se puede asignar a la pérdida de cationes orgánicos. Para las muestras de montmorillonitas tratadas con mayor cantidad de hexadimetrina (0.75, 1.1 y 1.5 CIC) aparecieron dos hombros, uno sobre 320 °C y otro a 500 °C. Esto ha sido descrito previamente en la bibliografía (Xi et al., 2005; Lapidés et al., 2011) y hace referencia a dos tipos de interacciones diferentes, una más débil, probablemente con las superficies externas, y otra más fuerte, probablemente interlaminar. Por último, a temperaturas superiores a 550°C ocurre la deshidroxilación de las láminas de arcilla. Dicha descomposición, en este caso, también se vio afectada incluso a bajas cantidades de hexadimetrina presentes en la interlámina, produciéndose un descenso en la temperatura a la que tuvo lugar (Fig. IV.11). Este desplazamiento en la deshidroxilación hacia temperaturas más bajas ha sido encontrado para otras arcillas tratadas con cationes del tipo alquilamonio (Lapidés et al., 2011).

Para este caso también se representó la cantidad teórica de hexadimetrina presente en las muestras frente a la calculada a partir de las curvas de TG. A pesar de poder haber sobreestimado la cantidad de catión orgánico para valores equivalentes a 1.1 y 1.5 CIC, se mantiene la misma linealidad que la observada para espermína en SWy-2 hasta alcanzar el 1.1 CIC de SAz-1. A partir de aquí existe una pérdida en la linealidad, probablemente como consecuencia de haberse alcanzado una cantidad de HEXADIM adsorbida próxima a la CIC de la montmorillonita (Fig. IV.11).

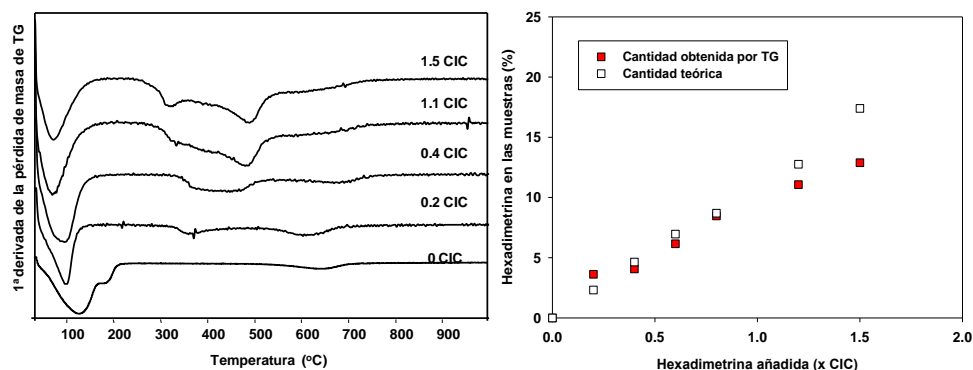


Figura IV.11. Primera derivada obtenida a partir de las curvas de TG para la pérdida de masa de SAz-1 tratada con diferentes cantidades de hexadimetrina (izquierda) y la relación lineal entre la cantidad de hexadimetrina añadida durante la síntesis y la obtenida en las muestras por TG (derecha).

Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

Mediante FTIR se evaluó cualitativamente la presencia de hexadimetrina en las muestras de SAz-1 tratadas con este catión orgánico. Las zonas del espectro más relevantes para las muestras de montmorillonita SAz-1 tratada con distintas cantidades de hexadimetrina se recopilan en la Figura IV.12. En el espectro de bromuro de hexadimetrina puro se registraron bandas a 3032, 2953 y 2864 cm^{-1} características de los modos de tensión de C-H de los grupos $-\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_3$. Estas bandas aparecieron también en los espectros de las muestras tratadas con hexadimetrina, creciendo la intensidad de las mismas a medida que la cantidad de ésta era mayor en las muestras, lo que indica la presencia del catión orgánico en las muestras (Fig. IV.12A). En la otra región importante, comprendida entre 1500-1400 cm^{-1} , se identifican las bandas de los modos de flexión de C-H para bromuro de hexadimetrina a 1487, 1466 y 1421 cm^{-1} y para las muestras tratadas con hexadimetrina a 1489, 1469 y 1425 cm^{-1} (Fig. IV.12B). El desplazamiento observado para estas bandas indica la interacción del catión con las láminas de arcilla, no sólo a través de los grupos protonados sino también débilmente a través de las cadenas alquílicas.

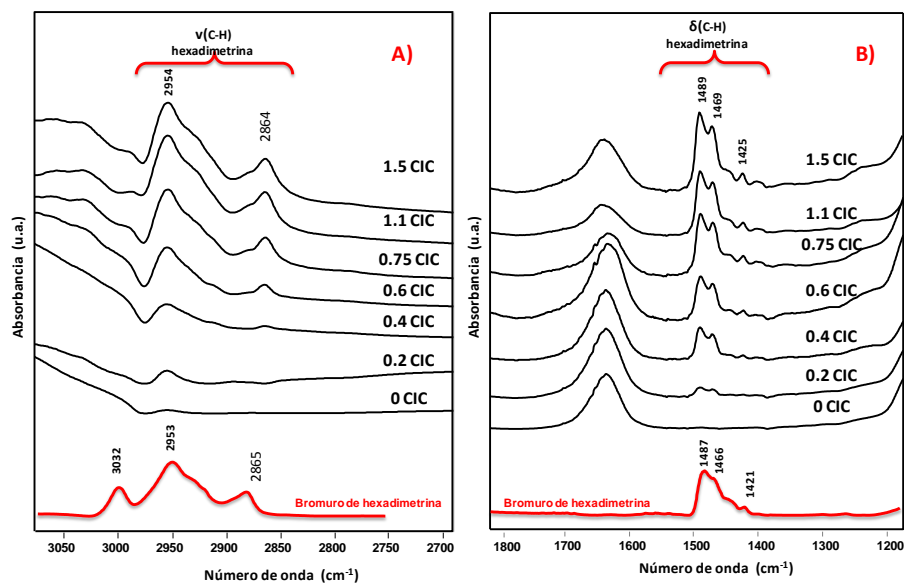


Figura IV.12. Espectros de FTIR de bromuro de hexadimetrina y SAz-1 tratada con hexadimetrina en las siguientes regiones: A) región para los modos de tensión de C-H. B) región que comprende las bandas de los modos de deformación para los grupos C-H.

Modelización del Sistema

Tras los datos recopilados durante la caracterización del sistema SA-HEXADIM puede concluirse que la disposición más probable para hexadimetrina en el espacio interlaminar de SAz-1 es en monocapa horizontal (Fig. IV.13). Los espaciados basales obtenidos de aproximadamente 1.4 nm concuerdan con el grosor del catión (~ 0.5 nm) y un espesor de la lámina de arcilla de aproximadamente 0.9 nm. Por otra parte, las dos distancia entre cargas existentes en el catión hexadimetrina son de 0.5 nm y 0.9 nm (Fig. IV.14). Teniendo en cuenta la densidad de carga de SAz-1, la distancia entre cargas en las láminas de arcilla es de 1 nm, lo que sería compatible con la distancia entre cargas del catión orgánico de 0.9 nm. Si consideramos dos láminas enfrentadas, la densidad de carga se incrementaría por un factor de dos, disminuyendo la distancia entre cargas a 0.5 nm, que también es compatible con la segunda distancia entre cargas existente en hexadimetrina. Finalmente, hay que tener en cuenta que en este caso el catión orgánico hexadimetrina es un polímero,

lo que hace suponer que el acoplamiento de éste en el espacio interlaminar de la arcilla sea complicado dejando cargas positivas libres en el exterior y/o negativas en la arcilla sin compensar.

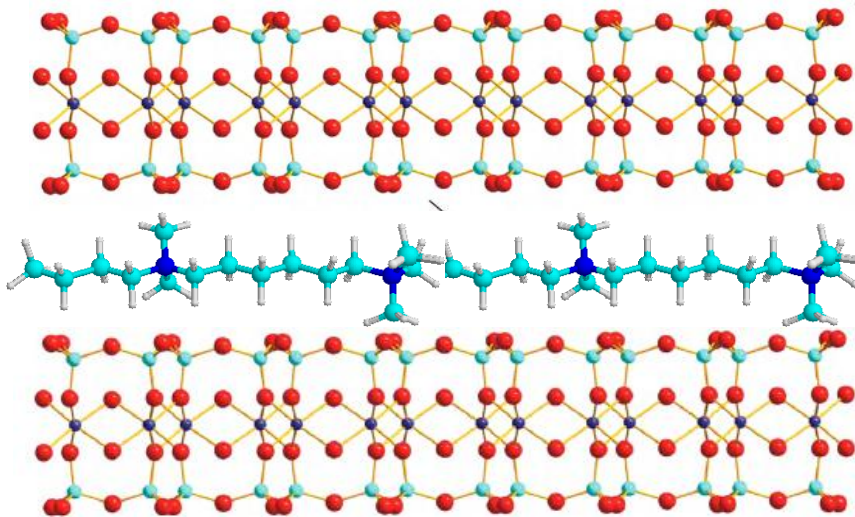


Figura IV.13. Representación esquemática de la disposición del catión hexadimetrina en SAz-1.

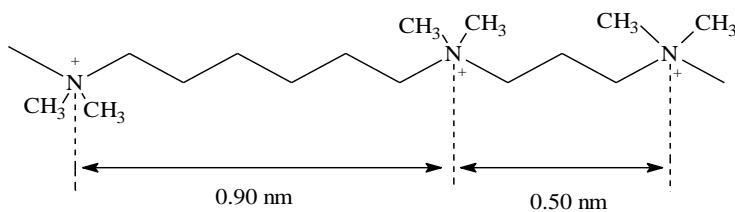


Figura IV.14. Disposición y distancia entre las cargas del catión hexadimetrina.

IV.2.2. Características de los alperujos

Las principales características resultantes del análisis de los residuos de almazara empleados en esta memoria (ALP, ALPcom y ALPcam) se recopilan en la Tabla IV.5.

A partir de los datos de la Tabla IV.5. se puede inferir que tanto ALP como ALPcam presentaron características similares, en cuanto al contenido en materia orgánica (~ 90%), C total (44%) y pH (~ 5.5). Hay que puntualizar que ambos son residuos frescos y no han sufrido tratamiento de compostaje alguno; únicamente fueron secados al aire para disminuir el contenido en humedad. Por otro lado, ALPcom presentó valores de materia orgánica menores (~ 34%) y pH superior (8.8) al de los alperujos frescos, como consecuencia del proceso de compostaje al cual fue sometido, donde el residuo fue mezclado con otros elementos (restos de poda, huesos de aceituna, etc...) y los compuestos que dan la acidez al alperujo, como los polifenoles, van desapareciendo durante el proceso (Albuquerque et al., 2006).

Tabla IV.5. Valores de los parámetros analizados para las muestras sólidas de los alperujos.

Parámetro	ALP	ALPcom	ALPcam
Humedad (%)	6	6	9
pH	5.4	8.8	5.7
CE (mS/cm)	8.0	6.5	9.3
Cenizas a 540°C (%)	8.8	66.1	11.2
C orgánico total (%)	44	20	44
Materia orgánica (calc. 540°C) (%)	91	34	89
N Kjeldahl (%)	1.25	1.26	1.38

IV. Resultados y Discusión

Debido al papel relevante que puede ejercer la materia orgánica soluble (MOS) en cuanto a la movilidad de los plaguicidas en suelos, se llevó a cabo una caracterización adicional de la misma para cada uno de los alperujos utilizados. La caracterización se realizó mediante análisis de C orgánico disuelto, espectroscopia de fluorescencia y espectroscopia de infrarrojos (FTIR).

En la Tabla IV.6 se exponen algunas de las características derivadas del análisis de los extractos de MOS y en las Figuras IV.15 y IV.16 se muestran los espectros de fluorescencia y de infrarrojos de la materia orgánica soluble extraída de los alperujos ALP, ALPcom y ALPcam.

Los resultados del análisis de los extractos de los alperujos ratificaron la similitud entre ALP y ALPcam, por sus bajos valores de pH y elevados contenidos en carbono orgánico disuelto en comparación con ALPcom. El índice de humificación, calculado según la Ecuación III.1, fue más parecido de nuevo para los casos de ALP y ALPcam en comparación con ALPcom (Tabla IV.6), lo que es indicativo del distinto grado de humificación de la materia orgánica presente en el extracto.

Tabla IV.6. Algunas características de los extractos de los alperujos†: pH, concentración de la materia orgánica soluble (MOS), porcentaje del carbono orgánico total (COT) e índice de humificación (IH).

Alperujo	pH	C.O (g/l)	IH
ALP	5.2	4.6	5.2
ALPcom	8.6	1.2	14.8
ALPcam	5.6	6.2	3.3

†Extracto de 1 g de alperujo: 20 ml CaCl₂ 0.01M

A partir de los datos recabados mediante el análisis de carbono orgánico disuelto y el índice de humificación, se deduce que la cantidad y calidad de la materia orgánica soluble obtenida para cada uno de los alperujos es diferente. De

los espectros de fluorescencia (Fig. IV.15) se infiere que la materia orgánica que compone el ALPcom está mucho más humificada que la que compone el ALP y ALPcam al poseer su máximo de intensidad de fluorescencia a valores mayores de 400 nm, lo que indica que predominan en su composición compuestos más condensados, principalmente aromáticos, típicos de sustancias húmicas (Cox et al., 2000b, 2004). Tanto ALP como ALPcam presentaron cierta fluorescencia en la región entre 300 y 380 nm, zona en la que suelen emitir moléculas con menor grado de condensación y humificación (Cox et al., 2000b, 2004; Ohno et al. 2007). Este hecho se confirma con los valores de índice de humificación (Tabla IV.6) que reflejan siguiente orden creciente de humificación para los alperujos

$$\text{ALPcam} < \text{ALP} \ll \text{ALPcom}$$

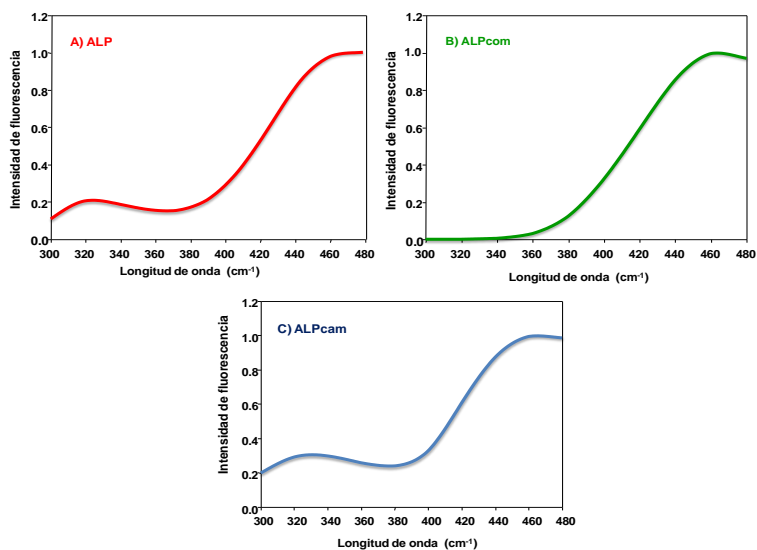


Figura IV.15. Espectros de emisión de fluorescencia, normalizados al máximo, de la MOS extraída de: A) ALP, B) ALPcom y C) ALPcam.

La diferencia de pH de los extractos (Tabla IV.6), por la que ALP y ALPcam presentaron un pH ácido (5.2 y 5.6, respectivamente) y ALPcom básico (8.6), puede atribuirse al proceso de compostaje sufrido por este último, a través del cual, los principales compuestos que originan la acidez disminuyen, como son: ácidos orgánicos de bajo peso molecular, lípidos y fenoles (Albuquerque et al., 2006). Este

hecho se ratifica si se observan los espectros de infrarrojo de los extractos de alperujos, los cuales se muestran en la Fig. IV.16.

Una de las principales características de los espectros de FTIR es la presencia de la banda a 1739 cm^{-1} en el caso de ALP (Fig. IV.16A) y 1710 cm^{-1} en el caso de ALPcam (Fig. IV.16C), que se asigna a la absorción del grupo carboxílico protonado ($-\text{COOH}$) (Cox et al., 2004) y que no aparece en el caso de ALPcom, mientras que en los tres espectros se distinguieron las bandas de absorción del ácido carboxílico ionizado ($-\text{COO}^-$) en $1576\text{--}1596\text{ cm}^{-1}$. Estos datos concuerdan con los valores de pH obtenidos, menores para ALP y ALPcam y más elevado para ALPcom, como consecuencia del proceso de compostaje. Estas diferencias encontradas podrían manifestar posteriormente comportamientos diferentes en la adsorción de herbicidas por cada alperujo. Por otro lado, en la región comprendida entre $3200\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ aparece una banda ancha para el caso de ALP y ALPcam (Fig. IV.16A y IV.16C) que puede ser asignada al modo de vibración O-H de los grupos $-\text{COOH}$ y que presenta menor intensidad en ALPcom (Fig. IV.16B) probablemente por su menor contenido en grupos carboxílicos y fenólicos protonados.

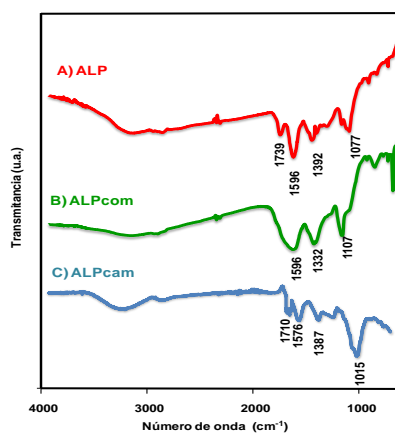


Figura IV.16. Bandas de absorción expresadas en transmitancia de los espectros de FTIR de los extractos de la MOS para: A) ALP, B) ALPcom y C) ALPcam.

IV.3. Evaluación del comportamiento de herbicidas en suelos enmendados con arcillas modificadas y residuos de almazara: Estudios de laboratorio

IV.3.1. Fluometurón

A continuación, se exponen y discuten los resultados obtenidos en los estudios del comportamiento del herbicida fluometurón realizados en condiciones de laboratorio. El objetivo a desarrollar en este apartado es el de evaluar el comportamiento de este herbicida en suelos enmendados con organoarcillas y residuos de almazara, con el fin de identificar posibles beneficios y optimizar el proceso de enmienda de los suelos. Para ello, se comenzó con experimentos de adsorción-desorción, que se completaron con estudios posteriores de persistencia, lixiviación y eficacia biológica.

IV.3.1.1. Estudios de adsorción – desorción a los adsorbentes

En primer lugar, se trató de identificar los mejores adsorbentes, entre los propuestos en este estudio, para el herbicida fluometurón, considerando la adsorción como un proceso clave en la disponibilidad del herbicida en el suelo y, por lo tanto, en su eficacia biológica. El protocolo a seguir consistió en medir la adsorción de fluometurón a una única concentración inicial (1 mg/l) para todos los adsorbentes y seguidamente obtener isothermas de adsorción-desorción en un rango de concentraciones 0.1-2 mg/l para aquellas muestras que presentaron las mejores propiedades adsorbentes.

IV.3.1.1.1. Adsorción a los adsorbentes a concentración única

En la Figura IV.17 se muestra el porcentaje de fluometurón adsorbido por las montmorillonitas inalteradas y modificadas, así como por alperujo (ALP) y alperujo compostado (ALPcom) a una concentración inicial de herbicida de 1 mg/l y

IV. Resultados y Discusión

una relación sólido:disolución de 20 mg de adsorbente:8 ml de disolución de herbicida.

Lo primero que hay que destacar es que, en el caso de las organoarcillas, el grado de adsorción de fluometurón dependió del tipo de montmorillonita y de la naturaleza del catión modificador. Las organoarcillas que exhibieron una mayor adsorción del herbicida fueron SW-HDTMA, SW-SPERM y SA-HDTMA, con porcentajes de adsorción comprendidos entre el 56% y 90%. Los alperujos presentaron porcentajes de adsorción considerablemente menores: 7% para el caso de ALP y tan sólo 4% para ALPcom (Fig. IV.17).

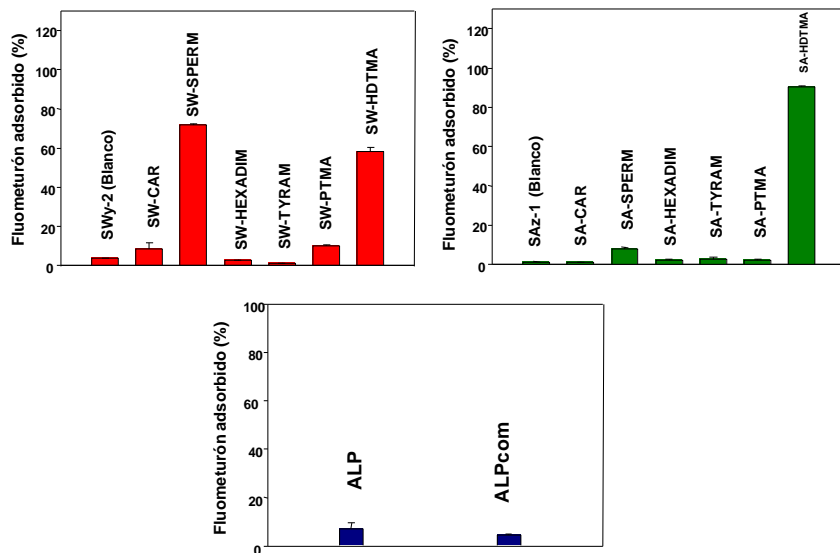


Figura IV.17. Porcentaje de fluometurón adsorbido por las muestras de montmorillonitas modificadas y sin modificar y alperujo (ALP) y alperujo compostado (ALPcom) a una concentración inicial de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 20 mg:8 ml.

Los resultados de adsorción de fluometurón a las organoarcillas que se muestran en la Figura IV.17 están en concordancia con los publicados por Celis et al. (2007) para otro herbicida del grupo de las fenilureas, diurón, obtenidos para las

mismas organoarcillas y bajo las mismas condiciones experimentales. La principal diferencia radica en que los porcentajes de adsorción obtenidos en esta memoria para fluometurón son ligeramente inferiores a los obtenidos por Celis et al. (2007) para diurón, lo que puede explicarse si tenemos en cuenta que la mayor solubilidad en agua de fluometurón (110 mg/l) frente a la de diurón (45 mg/l) aumenta su afinidad por la fase acuosa y reduce levemente su adsorción por las organoarcillas.

Por lo general, las muestras con mayor contenido en carbono orgánico dieron lugar a un aumento en la adsorción de fluometurón (SA-HDTMA y SW-HDTMA), así como aquellas que mostraron interacciones específicas entre grupos funcionales (SW-SPERM), presumiblemente por interacciones del herbicida con los cationes en la superficie de la montmorillonita modificada (Cruz-Guzmán et al., 2005). Por otra parte, la escasa o nula adsorción por parte de algunas organoarcillas para fluometurón fue consecuencia del pequeño espaciado basal combinado con la proximidad de cationes adyacentes que resulta tras la incorporación de los otros cationes orgánicos en las interláminas de las montmorillonitas, que dio como resultado un pequeño espacio interno disponible para la adsorción del herbicida, o la falta de interacciones específicas fluometurón-organoarcilla (Cruz-Guzmán et al., 2005).

La elevada afinidad de fluometurón por las organoarcillas SW-HDTMA y SA-HDTMA se puede atribuir a interacciones hidrofóbicas entre el herbicida y las cadenas alquílicas de los cationes HDTMA. El hecho de que SA-HDTMA adsorba mayor cantidad de fluometurón que SW-HDTMA se debe a la disposición vertical que el catión orgánico HDTMA adopta en el espacio interlaminar de la montmorillonita de elevada carga SAz-1. Esta disposición confiere a la organoarcilla una estructura parafínica con un espaciado basal de 2.4 nm (Tabla IV.3), lo que le proporciona una gran capacidad de retener al herbicida. En la montmorillonita de baja carga, SWy-2, los cationes orgánicos HDTMA se disponen en bicapas horizontales dando lugar a una estructura con un espaciado de 1.8 nm (Tabla IV.3), que hace que la entrada del herbicida en el espaciado interlaminar resulte más difícil (Jaynes y Vance, 1996; Celis et al., 2000; Cruz-Guzmán et al., 2005).

La afinidad mostrada por fluometurón hacia la organoarcilla SW-SPERM puede ser originada por la combinación de dos tipos de interacciones: i) de tipo hidrofóbico entre el herbicida y las cadenas alquílicas del catión espermina y ii) enlaces de hidrógeno entre el grupo C=O del herbicida y los grupos -NH_3^+ y -NH_2^+ del catión espermina, tal y como se ha propuesto para diurón (Celis et al., 2007). Por otro lado, estudios previos han demostrado que las interacciones polares entre los grupos carbonilo de alguno plaguicidas y grupos amino protonados de las aminas primarias pueden jugar un papel importante en la adsorción de dichos plaguicidas por organoarcillas (Hermosín y Cornejo, 1993; Celis et al., 2000).

La adsorción de fluometurón por los alperujos puede atribuirse a la capacidad inherente de la materia orgánica de adsorber compuestos orgánicos. La capacidad adsorbente de un alperujo es función de su contenido en materia orgánica y de las características de la misma (composición, pH, grado de humificación, etc.) (Karickhoff et al., 1979; Wauchope et al., 2002; Johnston y Tombacz, 2002). Así, la mayor afinidad que presenta ALP por fluometurón en comparación con ALPcom puede atribuirse, tal y como se ha descrito en el apartado de caracterización, a su mayor contenido en materia orgánica. Por otro lado, es conocido que valores de pH elevados conducen a una disminución en la afinidad de los compuestos orgánicos por la materia orgánica debido a un aumento en la polaridad de ésta (Real, 2010), hecho al que también se puede atribuir la menor adsorción presentada por ALPcom.

A título comparativo, en la Tabla IV.7 se muestran los coeficientes de distribución, K_d , de fluometurón a los alperujos y las organoarcillas que presentaron mejores propiedades adsorbentes. Se ratifican los datos obtenidos para los porcentajes de adsorción, con el siguiente orden decreciente de valores de K_d :

$$\text{SA-HDTMA} > \text{SW-SPERM} > \text{SW-HDTMA} > \text{ALP} > \text{ALPcom}$$

La Tabla IV.7 también presenta los valores de K_{oc} para cada muestra, obtenidos tras normalizar el valor de K_d respecto al contenido de carbono orgánico

del adsorbente. Los valores de K_{oc} reflejaron un orden distinto al presentado por K_d , lo que refleja la distinta eficacia de la fracción orgánica de las organoarcillas y los alperujos respecto a la adsorción. El orden decreciente para los valores de K_{oc} es:

$$SW-SPERM > SA-HDTMA > SW-HDTMA > ALPcom > ALP$$

El cambio en el orden de adsorción entre SW-SPERM y SA-HDTMA refleja que, sobre la base del contenido en carbono orgánico de las muestras, la espermina es incluso más eficaz que el catión HDTMA a la hora de adsorber fluometurón. Esto podría relacionarse con las interacciones polares que podrían establecerse entre el herbicida y la espermina, que hacen que la adsorción se deba no sólo a un aumento de la hidrofobicidad del sistema por la presencia del catión orgánico, como ocurre en SA-HDTMA, sino a la existencia de interacciones específicas entre el grupo $-C=O$ del fluometurón y los grupos amino de la espermina, que aumentan en gran medida la afinidad del catión orgánico por el herbicida. Algo parecido ocurre con los valores de K_{oc} obtenidos para los alperujos (Tabla IV.7), donde ALPcom presenta un coeficiente mayor, lo que refleja que su materia orgánica posee una mayor capacidad adsorbente para fluometurón respecto a la de ALP, probablemente debido a su mayor grado de humificación. Los valores de K_{oc} obtenidos para ALP y ALPcom están en el rango de 30-120 l/kg descritos en la bibliografía para la adsorción de fluometurón en suelos (PPDB, 2012).

Tabla IV.7. Valores de K_d y K_{oc} para la adsorción de fluometurón a SW-HDTMA, SW-SPERM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom para condiciones de adsorción 20 mg adsorbente:8 ml de disolución de fluometurón de 1 mg/l.

		SW-HDTMA	SW-SPERM	SA-HDTMA	ALP	ALPcom
K_d	l/kg	559 ± 50 ^a	1027 ± 23	3722 ± 318	31 ± 11	18.0 ± 2.1
K_{oc}	l/kg	3769 ± 339	35896 ± 801	16540 ± 1412	70 ± 26	120 ± 14

^a media ± error estándar

Una conclusión inmediata de los resultados de adsorción obtenidos a concentración única es que una modificación adecuada de las montmorillonitas puede dar lugar a organoarcillas con una capacidad adsorbente muy superior a la mostrada por los alperujos.

IV.3.1.1.2. Isotermas de adsorción - desorción

Las isotermas de adsorción de fluometurón en adsorbentes seleccionados se exponen en la Figura IV.18. Se constata que la modificación de las arcillas conlleva una mejora en la adsorción del herbicida y que dicha mejora es función de las características de la organoarcilla, esto es, de la naturaleza del catión modificador y del tipo de montmorillonita.

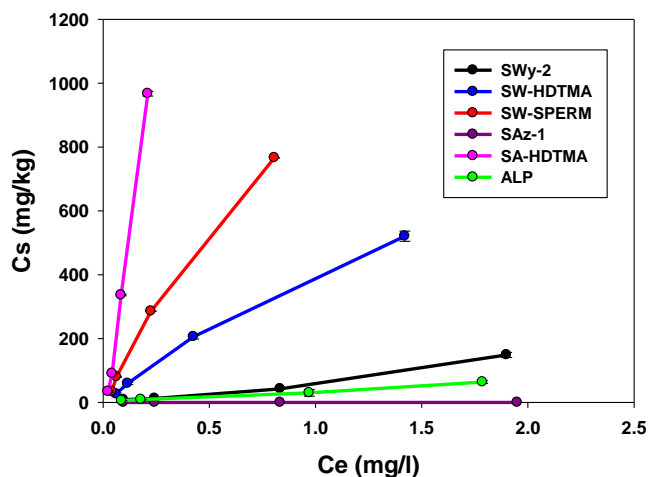


Figura IV.18. Isotermas de adsorción de fluometurón para los adsorbentes seleccionados.

Las isotermas de adsorción se modelizaron ajustándolas a la ecuación de Freundlich y en la Tabla IV.8 se muestran los coeficientes de adsorción resultantes del ajuste. En general, todas las isotermas se ajustaron adecuadamente a la ecuación, a excepción de la correspondiente a la montmorillonita SAz-1 sin

modificar, como consecuencia de la escasa adsorción que mostró fluometurón a esta arcilla. Si consideramos que K_f refleja la afinidad del herbicida por los adsorbentes, se observa que la tendencia en los valores de K_f es la misma que la observada para los coeficientes K_d obtenidos a concentración inicial única y fueron del mismo orden de magnitud. Las pequeñas diferencias entre los valores de K_d y K_f reflejan la dependencia de la adsorción respecto a la concentración cuando la isoterma no es lineal. Los valores de $N_f < 1$ son propios de isothermas de tipo L, según la clasificación de Giles et al. (1960). Es el caso de ALP y SWy-2 sin modificar, donde a medida que transcurre la adsorción se dificulta que las moléculas de soluto encuentren sitios de adsorción vacantes. Esto ocurre generalmente cuando los sitios de adsorción son limitados y progresivamente se van saturando a medida que incrementa la concentración de soluto (Cox et al., 1997a; Celis et al., 1999a). Para SW-SPERM y SW-HDTMA los coeficientes N_f fueron próximos a 1, por lo que se reconocen como isothermas de reparto constante o tipo C, donde se puede considerar que existe un reparto del herbicida entre la fase acuosa y la fase orgánica del adsorbente (Giles et al., 1960). Finalmente, para la organoarcilla SA-HDTMA la adsorción se relaciona con interacciones hidrofóbicas entre fluometurón y la organoarcilla, generadas por la estructura parafínica de la misma que le confiere un elevado carácter hidrofóbico, actuando como un medio de reparto entre la fase acuosa y la orgánica (Sheng et al. 1996; Lagaly, 2001; Prost y Yaron, 2001; Cornejo et al., 2008).

Tabla IV.8. Coeficientes de Freundlich para la adsorción de fluometurón en los adsorbentes seleccionados.

Muestra	K_f	N_f	R^2
SWy-2	55 (39-79) ^a	0.85 ± 0.01^a	0.851
SW-HDTMA	409 (367-456)	0.94 ± 0.06	0.992
SW-SPERM	1073 (848-1360)	1.00 ± 0.10	0.978
SAz-1	-- ^b	-- ^b	-- ^b
SA-HDTMA	7709 (6834-8696)	1.30 ± 0.04	0.998
ALP	36 (32-39)	0.79 ± 0.06	0.988

^a rango de error estándar

^b no se ajusta a la ecuación de Freundlich debido a que la adsorción del herbicida fue muy baja.

Las isothermas de adsorción-desorción para los adsorbentes seleccionados se exponen en la Figura IV.19, mientras que en la Tabla IV.9 se recogen los parámetros de la ecuación de Freundlich para la desorción, K_{fdes} y N_{fdes} . Además, se calculó un coeficiente de histéresis (ver Ec. I.4) como una medida del grado de irreversibilidad del proceso de adsorción en los sistemas elegidos, ampliamente utilizado en la bibliografía, como:

$$H = \frac{N_{f-des}}{N_{f-ads}}$$

donde N_{f-des} y N_{f-ads} son los coeficientes de la ecuación de Freundlich para la desorción y adsorción, respectivamente (O'Connor et al., 1980, Barriuso et al., 1994; Celis y Koskinen, 1999). Valores de $H = 1$ indican un comportamiento reversible que se refleja en la coincidencia de las ramas de adsorción y de desorción. A medida que H se aproxima a cero ($H < 1$), la histéresis aumenta y con ella la irreversibilidad del proceso. A veces se han observado valores de $H > 1$, atribuyéndolos a diferentes artefactos experimentales que, en cualquier caso, sólo suelen ser observables cuando el proceso de adsorción-desorción presenta una elevada reversibilidad (Barriuso et al., 1994).

La desorción transcurrió de forma reversible tanto para SW-SPERM como para SW-HDTMA, según indican sus respectivos valores de H próximos a la unidad (Tabla IV.9), mientras que para la organoarcilla SA-HDTMA la elevada adsorción que presenta dificultó el análisis de la desorción (Barriuso et al., 1994), tal y como ilustra la Figura IV.19. El ALP fue el que mostró mayor irreversibilidad en el proceso ($H = 0.11$), a pesar de que la adsorción de fluometurón en este adsorbente fue más baja comparada con las organoarcillas. Aunque existen otras causas por las que se puede producir irreversibilidad en la adsorción, para el caso de fluometurón por parte de ALP es presumible que el agua no haya alcanzado los sitios de adsorción hidrofóbicos donde con mayor probabilidad se encontrara retenido el herbicida (Celis et al., 1999c), tal y como se ha encontrado para la desorción de otros herbicidas de ácidos húmicos y otros materiales orgánicos (Celis et al., 1996).

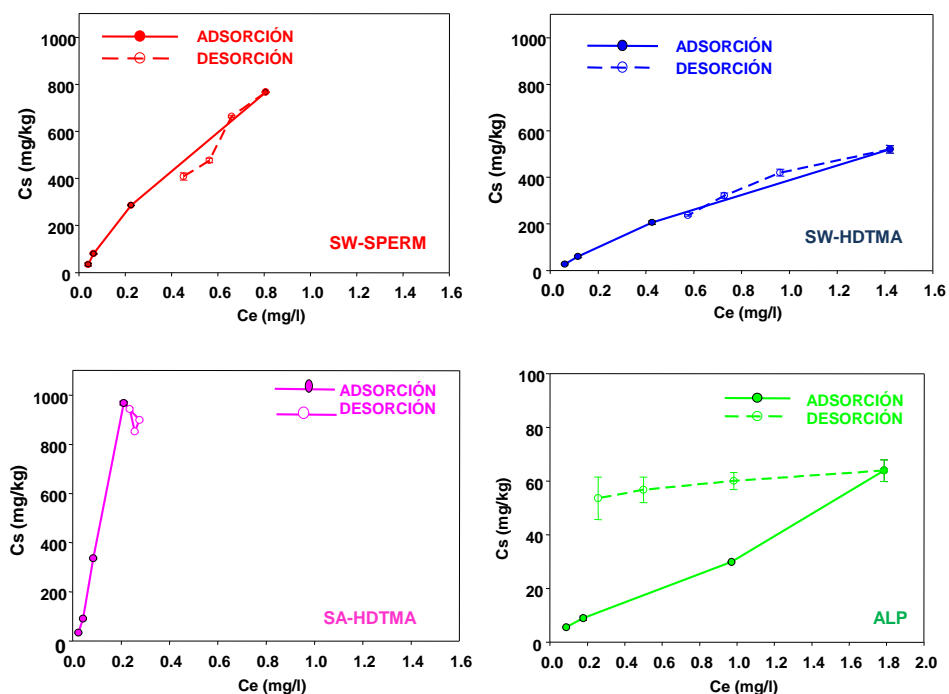


Figura IV.19. Isothermas de adsorción-desorción de fluometurón para los adsorbentes seleccionados.

Tabla IV.9. Coeficientes de Freundlich para la desorción de fluometurón en los adsorbentes seleccionados.

Muestra	K_{f-des}	N_{f-des}	R^2	H
SW-HDTMA	405 (387-423) ^a	0.86 ± 0.12	0.962	0.97
SW-SPERM	1000 (906-1103)	1.15 ± 0.18	0.953	0.97
SA-HDTMA	-- ^b	--	--	--
ALP	60 (59-61)	0.09 ± 0.00	0.997	0.11

^arango de error estándar

^bno se ajusta a la ecuación de Freundlich debido a que la adsorción del herbicida fue muy elevada.

La relevancia de los resultados de desorción presentados en este apartado recae en que un comportamiento reversible en la adsorción haría viable el uso de los

adsorbentes seleccionados como enmiendas de suelos agrícolas manteniendo una elevada biodisponibilidad del herbicida, mientras que adsorciones irreversibles harían más apropiado el uso del adsorbente como posibles barreras inmovilizantes del agroquímico, con una menor biodisponibilidad del mismo.

IV.3.1.2. Adsorción a suelos enmendados y sin enmendar

En este apartado se presentan los resultados de los experimentos diseñados para evaluar el efecto de la adición de organoarcillas y alperujo a los cuatro suelos seleccionados en esta memoria en el proceso de adsorción de fluometurón. Los adsorbentes que, de acuerdo con los resultados del apartado anterior, mostraron una mayor afinidad por el herbicida se añadieron a los suelos en diferentes proporciones (0, 1, 2 y 5 %), con el objetivo de optimizar el proceso, es decir, determinar la cantidad más adecuada para aumentar la adsorción con el porcentaje de enmienda conveniente.

La Figura IV.20 muestra los porcentajes de adsorción de fluometurón en los cuatro suelos, sin enmendar y enmendados con diferentes cantidades de las organoarcillas y alperujo. Es necesario apuntar que la muestra de suelo S1 utilizada en los experimentos contenía una cantidad residual de fluometurón correspondiente a 0.24 mg/kg, que se determinó mediante extracción del suelo con metanol y posterior análisis del extracto. Esta concentración de fondo, debida a tratamientos previos del suelo con el herbicida como práctica agrícola durante el cultivo de algodón, se tuvo en cuenta en los cálculos de adsorción.

Considerando en primer lugar los suelos sin enmendar, la mayor adsorción de fluometurón la presentaron los suelos con mayor contenido en arcilla y materia orgánica (S1 y S3). Los suelos S2 y S4, con menores contenidos en arcilla y materia orgánica, mostraron una menor afinidad por el herbicida (Fig. IV.20). Aunque algunos autores apuntan a la materia orgánica como la principal responsable de la adsorción del herbicida fluometurón en suelos (Savage y Wauchope, 1974), también se ha visto que otros parámetros como el pH o la capacidad de intercambio

catiónico (CIC) del suelo pueden ser relevantes, sobre todo cuando el suelo presenta un bajo contenido en materia orgánica (Brown et al., 1994; Willian et al., 1997; Locke et al., 2007). En nuestro caso, observamos una elevada correlación entre el porcentaje de fluometurón adsorbido y el contenido en arcilla de los suelos sin enmendar ($r=0.984$, $P<0.01$), lo cual está en concordancia con el importante papel que pueden jugar los componentes minerales en la adsorción de plaguicidas con grupos funcionales polares, especialmente en suelos con bajos contenidos en materia orgánica como suele ser el caso de los suelos mediterráneos (Celis et al., 1997b; Cox et al., 1997a; Hermosín et al., 2000).

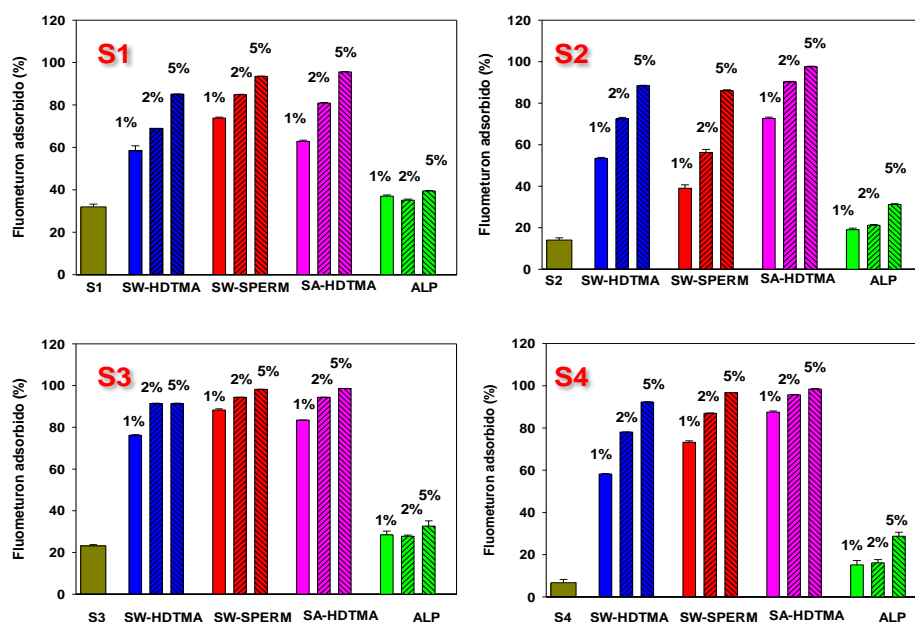


Figura IV.20. Porcentaje de fluometurón adsorbido en los suelos sin enmendar y enmendados a diferentes porcentajes (1%, 2% y 5%) con SW-HDTMA, SW-SPERM, SA-HDTMA y ALP a una concentración inicial de herbicida de 1 mg/l.

Independientemente de la capacidad de adsorción inicial de cada suelo, en todos los casos la enmienda con organoarcillas y alperujo provocó un incremento en

la adsorción de fluometurón (Fig. IV.20). El incremento dependió de la naturaleza y cantidad de enmienda añadida, así como del suelo considerado, si bien es de destacar que el incremento producido por las organoarcillas fue siempre mucho mayor que el producido por la adición de alperujo (Fig. IV.20).

En las Tablas IV.10 y IV.11 se muestran los coeficientes adsorción, K_d , obtenidos experimentalmente para los suelos sin enmendar y enmendados y se comparan con los valores esperados, K_{d-calc} , calculados teóricamente asumiendo un comportamiento independiente del suelo y de la enmienda en las mezclas. Estos coeficientes esperados pueden calcularse de acuerdo a la siguiente expresión:

$$K_{d-calc} = K_{d-suelo} f_{suelo} + K_{d-enm} f_{enm} \quad \text{Ec. IV. 1}$$

donde $K_{d-suelo}$ y K_{d-enm} son los coeficientes individuales de distribución, K_d , para el suelo y la enmienda en cuestión y f_{suelo} y f_{enm} son las fracciones de suelo y enmienda presentes en la mezcla, respectivamente. Es importante resaltar que esta expresión implica asumir un comportamiento independiente de los componentes de la mezcla en cuanto a la adsorción y que ésta es lineal, es decir, que el valor de K_d no depende de la concentración (Rodríguez-Cruz et al., 2007). Para los cálculos se utilizaron los coeficientes de adsorción individuales determinados para las enmiendas y que se dan en la Tabla IV.7.

A la luz de los resultados recopilados en las Tablas IV.10 y IV.11 hay que destacar que aunque las enmiendas, tanto organoarcillas como alperujo, incrementaron la adsorción de fluometurón por los suelos, el incremento fue siempre menor que el que cabría esperar si consideramos los coeficientes de distribución individuales y las fracciones de cada componente en las mezclas, es decir, los valores experimentales de K_d fueron siempre inferiores a los de K_{d-calc} . Este resultado pone de manifiesto que las enmiendas fueron menos efectivas en la adsorción de fluometurón en presencia de los suelos que en su ausencia, y posiblemente refleja que se producen interacciones entre algunos componentes del suelo, principalmente

solubles, y los adsorbentes que provocan un bloqueo de los sitios de adsorción para el herbicida o que dichos componentes solubles compiten con el herbicida por los sitios de adsorción, reduciendo de esta forma el rendimiento de los adsorbentes en los suelos enmendados (Celis et al., 1998b). Cambios en las condiciones experimentales, como el pH, también pueden alterar la capacidad adsorbente de las enmiendas en sus mezclas con suelos respecto a su comportamiento aislado.

Tabla IV.10. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para fluometurón, en los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujo a diferentes porcentajes.

Tratamiento		S1		S2	
		K_d	K_{d-calc}	K_d	K_{d-calc}
		-----l/kg-----		-----l/kg-----	
Sin enmendar		0.9 ± 0.1^a	-	0.3 ± 0.1	-
SW-HDTMA	1%	2.8 ± 0.3	6.5	2.3 ± 0.1	5.9
	2%	4.3 ± 0.1	11.9	5.2 ± 0.2	11.3
	5%	10.8 ± 0.1	27.5	14.2 ± 0.4	27.0
SW-SPERM	1%	4.7 ± 0.1	11.1	1.3 ± 0.1	10.5
	2%	11.0 ± 0.1	21.1	2.6 ± 0.2	20.5
	5%	27.4 ± 0.4	49.8	11.8 ± 0.5	49.2
SA-HDTMA	1%	3.4 ± 0.1	37.8	5.3 ± 0.2	37.2
	2%	8.3 ± 0.1	73.9	18.2 ± 0.6	73.3
	5%	41.4 ± 0.8	178.1	78.2 ± 8.4	177.5
ALP	1%	1.2 ± 0.0	1.2	0.4 ± 0.0	0.6
	2%	1.1 ± 0.0	1.5	0.5 ± 0.0	0.9
	5%	1.2 ± 0.0	2.4	0.9 ± 0.0	1.8

^a media \pm error estándar

IV. Resultados y Discusión

Otro aspecto a destacar de los resultados expuestos en las Tablas IV.10 y IV.11 es que una misma enmienda provocó incrementos diferentes en la adsorción de fluometurón dependiendo del suelo al que fue aplicada. Por ejemplo, los valores experimentales de K_d para el suelo S2 enmendado con los adsorbentes SA-HDTMA y SW-HDTMA fueron más próximos a los calculados que en el caso del suelo S1, mientras que para SW-SPERM, se observó el comportamiento inverso, con los coeficientes para el suelo S1 más próximos a los calculados que para el suelo S2 (Tabla IV.10).

Tabla IV.11. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para fluometurón, en los suelos S3 y S4 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujo a diferentes porcentajes.

Tratamiento		S3		S4	
		K_d	K_{d-calc}	K_d	K_{d-calc}
		-----l/kg-----		-----l/kg-----	
Sin enmendar		0.6±0.02 ^a	--	0.2 ±0.0	--
SW-HDTMA	1%	3.1 ± 0.2	6.1	2.8 ± 0.0	5.7
	2%	6.3 ± 0.1	11.6	7.0 ± 0.0	11.1
	5%	20.0 ± 0.7	27.2	22.8 ± 0.4	26.8
SW-SPERM	1%	5.2 ± 0.8	10.8	5.4 ± 0.2	10.3
	2%	12.1 ± 0.3	20.7	13.0 ± 0.2	20.3
	5%	30.1 ± 2.3	49.5	32.8 ± 0.0	49.0
SA-HDTMA	1%	10.0 ± 0.0	37.4	13.9 ± 0.7	37.8
	2%	33.0 ± 0.1	73.6	43.7 ±1.3	73.9
	5%	131.3 ± 0.3	177.8	121.9 ± 14.8	178.1
ALP	1%	0.8 ±0.8	0.9	0.4 ± 0.1	1.2
	2%	0.8 ± 0.0	1.2	0.4 ± 0.0	1.5
	5%	0.9 ± 0.1	2.1	0.8 ± 0.1	2.4

^a media ± error estándar

En el caso de alperujo, los suelos S1 y S3 enmendados con ALP mostraron valores de K_d superiores que los suelos S2 y S4; no obstante, debido a su bajo poder de adsorción inicial fue en los suelos S2 y S4, de textura más gruesa y bajo contenido en carbono orgánico, donde el efecto de la enmienda fue más acusado (Tablas IV.7 y IV.8). Lo que estos resultados indican es que, dado que una misma enmienda puede provocar efectos diferentes en la adsorción del herbicida dependiendo del suelo al que se aplique, la elección de la enmienda debería hacerse a partir de un conocimiento de su efecto en el suelo considerado y no a partir de extrapolaciones del comportamiento en suelos diferentes.

Sobre la base de los resultados obtenidos para la adsorción de fluometurón en los suelos enmendados, se seleccionó la organoarcilla SW-SPERM y el residuo orgánico ALP, para los posteriores estudios de persistencia, lixiviación y eficacia biológica del herbicida en los suelos S1 y S2. La organoarcilla SW-SPERM se seleccionó por combinar una elevada capacidad adsorbente para fluometurón con el origen natural del catión modificador (Cruz-Guzmán et al., 2004, 2005; Cornejo et al., 2008a). Los suelos S1 y S2 se seleccionaron por ser marcadamente diferentes en cuanto a textura y por proceder de cultivos de algodón y olivar, respectivamente, siendo éstos los principales cultivos en los que se aplica fluometurón.

IV.3.1.3. Estudios de persistencia

En este apartado se estudiará el efecto en la persistencia de fluometurón tras la enmienda de los suelos S1 y S2 con SW-SPERM y ALP a diferentes porcentajes. Para ello, se llevaron a cabo experimentos de incubación donde la cantidad residual de herbicida en las muestras a diferentes tiempos de incubación se determinó por extracción con metanol, considerándose como la cantidad de herbicida biodisponible o potencialmente disponible para la degradación (Albarrán et al., 2003).

Las curvas de disipación obtenidas en esta experiencia se recogen en la Figura IV.21. En todos los casos y para ambos suelos, la forma que presentaron las

IV. Resultados y Discusión

curvas fue sigmoideal, lo que se relaciona con compuestos que son utilizados como sustrato de crecimiento microbiano (Kearney et al., 1997). Las curvas sigmoideales se caracterizan por presentar una fase de latencia, donde la cantidad inicial de compuesto se mantiene relativamente invariable, para después decaer rápidamente, pudiendo quedar una cantidad residual de compuesto que suele relacionarse con una fracción fuertemente unida a las partículas del suelo o presente en lugares de difícil acceso y, por tanto, poco disponible para la degradación por los microorganismos (McDonald, 2006; Stintzing et al., 2006). De acuerdo con las curvas sigmoideales obtenidas en este trabajo, la literatura recoge que la vía principal de degradación de fluometurón en suelos es microbiana, a través de procesos de desmetilación que originan los metabolitos desmetilfluometurón (DMF), trifluorometil fenilurea (TFMFU) y trifluorometilanilina (TMFA) (Bozarth y Funderburk, 1971; Mueller et al., 1992; Sorensen et al., 2003a; Locke et al., 2007; Lancaster et al., 2008).

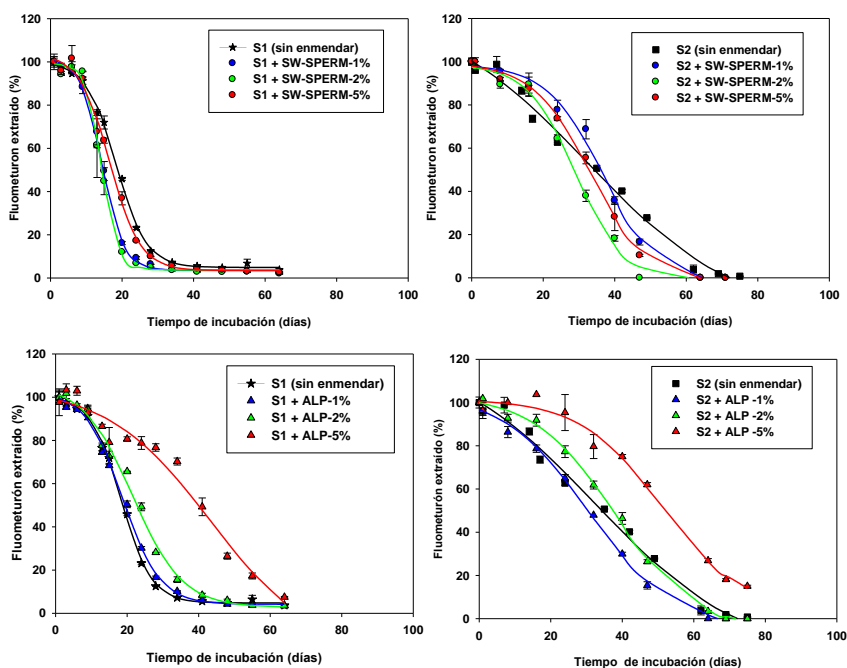


Figura IV.21. Curvas de disipación de fluometurón en los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados al 1%, 2% y 5% con SW-SPERM y ALP. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las líneas corresponden al ajuste de los mismos a la ecuación IV.3.

Teniendo en cuenta la forma de las curvas, éstas se ajustaron a la siguiente ecuación sigmoideal con 4 constantes cinéticas de degradación (ajuste realizado con SIGMAPLOT ver. 10):

$$C = C_0 + \frac{a}{1 + e^{-\frac{t-t_0}{b}}} \quad \text{Ec. IV. 2}$$

donde C representa la concentración de herbicida en el suelo a tiempo t, C_0 es la concentración de herbicida a $t = \infty$, es decir, la cantidad residual no degradable, a es la diferencia entre la concentración inicial y la concentración mínima (C_0), t_0 corresponde al tiempo para el cual C es igual al 50% de a , y b es el tiempo al cual C es el 75 % de a menos el tiempo al cual C es el 25 % de a (Han et al., 2008). El tiempo necesario para que la concentración de herbicida se reduzca a la mitad puede calcularse, haciendo $C = (a + C_0)/2$, como:

$$TD_{50} = t_0 - b \ln \frac{2a}{a - C_0} - 1 \quad \text{Ec. IV. 3}$$

Los parámetros derivados del ajuste de las curvas a la ecuación IV.2 se recogen en la Tabla IV.12, donde las concentraciones de herbicida se han expresado como porcentajes de la inicial y los tiempos están expresados en días. También se calcularon los tiempos necesarios para que la concentración de herbicida se reduzca al 50% de la inicial, TD_{50} , usando la Ec. IV.3. La Figura IV.21 refleja que las curvas resultantes del ajuste describen bastante bien los datos experimentales. Los bajos valores de C_0 (< 5%) obtenidos en la mayoría de los casos indican que las cantidades residuales de herbicida no degradable fueron pequeñas, haciendo, de acuerdo con la ecuación IV.3, que el valor de t_0 se aproxime al de TD_{50} (Tabla IV.12).

IV. Resultados y Discusión

Tabla IV.12. Constantes del ajuste de los datos de disipación de fluometurón en S1 y S2 a una cinética de tipo sigmoidal (Ec. IV.2 y IV.3).

Tratamiento		C ₀	a	t ₀	b	R ²	TD ₅₀	
Sin enmendar		4.9 ± 0.8 ^a	95.2 ± 1.6	18.4 ± 0.3	-4.2 ± 0.2	0.999	22	
S1	SW-SPERM	1%	3.5 ± 0.6	98.2 ± 1.5	14.4 ± 0.2	-3.1 ± 0.2	0.999	17
		2%	3.7 ± 1.0	95.7 ± 2.0	14.2 ± 0.2	-2.3 ± 0.2	0.997	16
		5%	3.4 ± 1.5	100.5 ± 3.5	16.5 ± 0.5	-4.3 ± 0.4	0.996	20
	ALP	1%	4.1 ± 1.3	98.4 ± 3.1	18.7 ± 0.5	-5.2 ± 0.4	0.997	23
		2%	2.7 ± 2.2	103.5 ± 5.4	21.5 ± 0.9	-7.0 ± 0.8	0.994	27
		5%	-8.5 ± 4.5	108.7 ± 7.5	41.3 ± 1.6	-11.6 ± 1.8	0.989	47
Sin enmendar		-6.3 ± 2.3	121.8 ± 10.7	31.4 ± 2.5	-16.5 ± 2.4	0.993	42	
S2	SW-SPERM	1%	-2.6 ± 3.3	101.4 ± 4.8	36.6±1.1	-7.8 ± 1.1	0.994	42
		2%	-1.5 ± 2.7	100.3 ± 4.3	29.0±1.0	-6.8 ± 0.9	0.995	34
		5%	-2.3 ± 2.3	102.0 ± 3.5	33.2±0.8	-8.1 ± 0.8	0.997	39
	ALP	1%	-4.5 ± 2.3	109.3 ± 5.5	30.3±1.1	-12.0 ± 1.3	0.998	38
		2%	-5.6 ± 2.8	109.3 ± 4.7	37.7±0.9	-11.3 ± 1.1	0.998	45
		5%	4.2 ± 1.2	97.4 ± 12.0	50.5±3.3	-11.2 ± 2.5	0.991	59

^a media ± error estándar

En primer lugar, cabe destacar que la degradación de fluometurón en los suelos sin enmendar ocurrió de forma más rápida para S1 que para S2. Prueba de ello son los valores de TD₅₀ obtenidos a través del ajuste de las curvas: 22 días para S1 frente a 44 días para S2. El período de latencia necesario para el crecimiento de la población microbiana fue casi inapreciable para S1, lo que puede atribuirse a que este suelo había recibido aplicaciones previas de fluometurón como práctica agrícola para el cultivo de algodón, por lo que es probable que contuviera microorganismos adaptados para la degradación del herbicida (Cox et al., 1996; Sorensen et al.,

2003b). Dado que la adsorción de fluometurón al suelo S1 es mayor que al suelo S2 (Fig. IV.20, Tabla IV.10) y a pesar de ello el herbicida se degrada más rápidamente en S1, se pone de manifiesto que no sólo la adsorción es un factor a tener en cuenta en la biodegradación, sino que otros factores, como la historia del suelo, pueden ser determinantes en el patrón de degradación del herbicida. Por otra parte, los tiempos de vida media obtenidos se encuentran dentro del rango publicado por otros autores para fluometurón en suelos y que oscilan entre 18 y 49 días (Mueller et al., 1992; Brown et al., 1994; Willian et al., 1997; Zablotowicz et al., 2000).

La enmienda de ambos suelos con la organoarcilla SW-SPERM a los distintos porcentajes ensayados no afectó en gran medida a la disipación del herbicida (TD_{50} entre 17 y 20 días para S1 y entre 39 y 42 días para S2), mostrando de nuevo que en ningún caso la mayor adsorción de fluometurón por los suelos enmendados con SW-SPERM retardó la degradación. En principio, este resultado está de acuerdo con la elevada reversibilidad que había mostrado la adsorción de fluometurón en esta organoarcilla (Fig. IV.20). Esta elevada reversibilidad hace que la desorción no sea un paso limitante para la degradación si dicha desorción ocurre de forma rápida a medida que el herbicida se va disipando de la disolución del suelo por procesos degradativos. Este fenómeno fue similar al observado para otro herbicida del tipo fenilurea (diurón) en formulaciones de liberación lenta con la misma organoarcilla, donde el herbicida adsorbido presentó una disipación similar a la del herbicida libre (Trigo et al., 2009).

A diferencia del escaso efecto de SW-SPERM en la disipación de fluometurón en los suelos, los suelos tratados con ALP, especialmente a la dosis más alta de enmienda (5%), mostraron un aumento en la persistencia del herbicida, con valores de TD_{50} que aumentaron hasta los 47 y 59 días para los suelos S1 y S2, respectivamente (Tabla IV.12). Este hecho está de acuerdo con resultados expuestos en la bibliografía que apuntan que el aumento del contenido en materia orgánica del suelo disminuye la degradación de fluometurón como consecuencia de un aumento en la adsorción (Brown et al., 1994; Zablotowicz et al., 2000; Locke et al., 2007; Lancaster et al., 2008). Cabrera et al. (2007) también observaron un aumento de la persistencia del herbicida diurón en suelos enmendados con alperujo,

que explicaron por una fuerte adsorción del herbicida a la enmienda orgánica junto con la baja solubilidad y estabilidad química de este herbicida. En nuestro caso, el aumento en la adsorción de fluometurón por la adición de ALP fue pequeño (Fig. IV.20), pero la adsorción del herbicida en esta enmienda presentó una elevada irreversibilidad (Fig. IV.19), pudiendo esto contribuir a reducir su biodisponibilidad. Además, la materia orgánica del ALP puede ser utilizada como sustrato de crecimiento para los microorganismos del suelo, con preferencia a fluometurón, o incluso causar cierto efecto tóxico en dichos microorganismos. Cualquiera de estos mecanismos, descritos en la bibliografía, explicarían el aumento de la persistencia de fluometurón en los suelos enmendados con alperujo (Albarrán et al., 2004). Nuestros resultados, por otro lado, difieren de los encontrados por otros autores (Wagner y Zablotowicz, 1997; Bozarth y Funderburk, 1971) donde distintas enmiendas aceleraron la degradación de fluometurón al aumentar la masa microbiana como consecuencia del incremento de materia orgánica. En nuestro caso, este último mecanismo podría haber ocurrido para los porcentajes de enmienda más bajos utilizados (1% y 2%), para los que el aumento en la persistencia del herbicida no fue tan evidente (Fig. IV.21, Tabla IV.12).

Interesante es mencionar que el principal metabolito de fluometurón, desmetilfluometurón (DMF), fue detectado durante el desarrollo del experimento de incubación con ambos suelos, tanto enmendados con SW-SPERM como con ALP. En menor concentración también se encontró el metabolito trifluorometilanilina (TMFA) para los suelos enmendados con SW-SPERM, pero no en los suelos enmendados con ALP, reflejando diferencias en las rutas de degradación del herbicida en función del enmendante o la presencia del metabolito como residuo no extractable incorporado en la materia húmica procedente del ALP (Locke et al., 2007).

IV.3.1.4. Estudios de lixiviación

La lixiviación de fluometurón en los suelos S1 y S2 se estudió usando columnas empaquetadas a mano, comparando los efectos de distintas dosis de enmiendas en la movilidad del herbicida. La enmienda consistió en añadir a los últimos 10 g de suelo (1.25 cm) los distintos adsorbentes en proporciones del 1%, 2% y 5%, equivalentes a 1.3, 2.6 y 6.5 t/ha. En el caso de ALP también se preparó un tratamiento en toda la columna al 2% (ALP-2%-mezcla), equivalente a aproximadamente 42 t/ha, con el fin de aproximar las condiciones de laboratorio a las dosis agronómicas reales utilizadas para este residuo orgánico. Tras la enmienda, las columnas se saturaron con agua y a continuación se aplicó la formulación comercial de fluometurón a una dosis equivalente a 2 kg/ha. Diariamente, las columnas se regaron con 15 ml de agua, se recogieron los lixiviados y se analizaron por HPLC.

Las curvas de elución de fluometurón en los suelos S1 y S2 enmendados y sin enmendar se recogen en las Figuras IV.22 y IV.23, respectivamente. En ellas se muestran las curvas de elución relativas, como las concentraciones diarias de herbicida en los lixiviados, y las curvas de elución acumulativas, como la cantidad de herbicida recuperado a lo largo del experimento, expresada en porcentaje acumulado frente al volumen de agua aplicado.

Curvas de elución relativas. Considerando en primer lugar los suelos sin enmendar, las curvas de elución relativas revelaron que las concentraciones de fluometurón en los lixiviados del suelo S1 fueron considerablemente menores que para el suelo S2, dando curvas de lixiviación más achatadas. La máxima concentración de fluometurón en los lixiviados del suelo S1 fue de 0.43 mg/l frente a 1.81 mg/l para el suelo S2 (Fig. IV.22 y IV.23). Esto está de acuerdo con la mayor adsorción y menor persistencia de fluometurón en el suelo S1 y también con su textura arcillosa y la presencia de poros de pequeño tamaño, ya que todos estos factores contribuyen a achatar la curva de lixiviación. La mayor retención de fluometurón en el suelo S1 también se tradujo en un desplazamiento de las curvas de lixiviación, de forma que el volumen de poro al cual apareció la concentración

IV. Resultados y Discusión

máxima de herbicida en los lixiviados ($VP_{\text{máx}}$) fue de 3.3 para el suelo S1 frente a 1.8 para S2 (Tabla IV.13). Hay que destacar que el herbicida que aparece en los primeros lixiviados del suelo S1 hasta la adición de 100-150 ml de agua (Fig. IV.22), correspondió a la pequeña cantidad de fluometurón endógeno presente en este suelo, tal y como se ha mencionado en el apartado IV.3.1.2., apareciendo a partir de este punto el herbicida añadido a las columnas.

La adición de SW-SPERM y ALP a los suelos tuvo diferentes efectos en las curvas de elución relativas en función del tipo, porcentaje y procedimiento de enmienda, según se muestra en las Figuras IV.22 y IV.23.

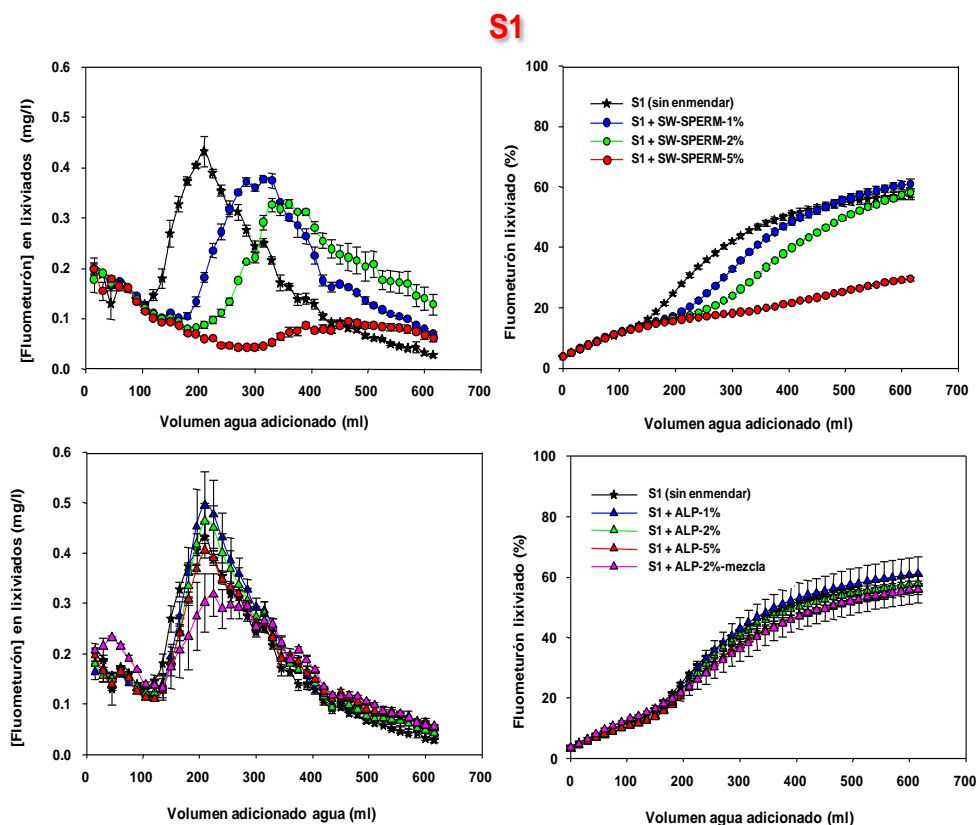


Figura IV.22. Curvas de elución relativas (izquierda) y acumuladas (derecha) para fluometurón aplicado a las columnas de suelo S1 sin enmendar y enmendado a diferentes porcentajes con SW-SPERM y ALP.

La enmienda con la organoarcilla SW-SPERM incrementó la retención del herbicida en ambos suelos produciendo un retraso en la lixiviación, esto es, un desplazamiento de los picos de máxima concentración de herbicida hasta los 315-465 ml de agua adicionados (5.0-7.4 volúmenes de poro) para S1 y hasta los 150-375 ml (2.6-6.6 volúmenes de poro) para S2 (Tabla IV.13). El retraso aumentó con la dosis de enmienda de forma que fue particularmente pronunciado en los suelos enmendados con SW-SPERM al 5% (Fig. IV.22 y IV.23). También produjo un achatamiento de las curvas de elución disminuyendo la concentración máxima de herbicida en los lixiviados hasta 0.10-0.38 mg/l en el caso del suelo S1 y hasta 0.26-0.69 mg/l en el caso del suelo S2 (Tabla IV.13).

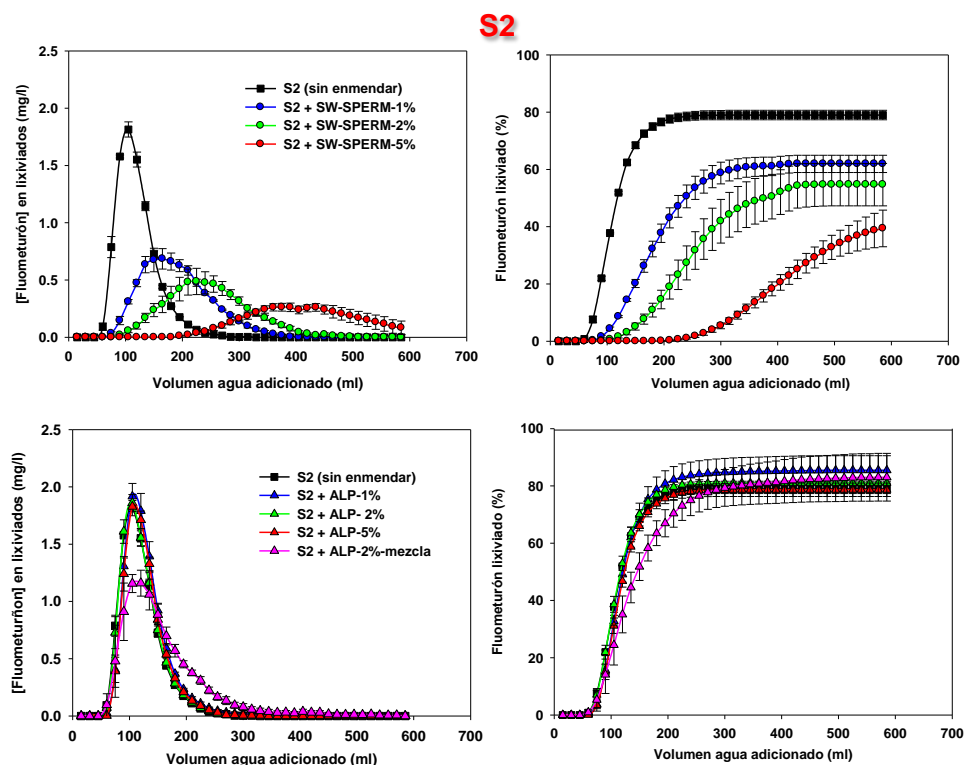


Figura IV.23. Curvas de elución relativas (izquierda) y acumuladas (derecha) para fluometurón aplicado a las columnas de suelo S2, sin enmendar y enmendado a diferentes porcentajes con SW-SPERM y ALP.

IV. Resultados y Discusión

Tabla IV.13. Concentración máxima de herbicida en los lixiviados y volumen de poro al que apareció dicha concentración máxima ($VP_{\text{máx}}$). Factores de retardo teóricos calculados a partir de los valores de K_d de los adsorbentes individuales ($FR_{\text{teor-1}}$), y de los suelos enmendados ($FR_{\text{teor-2}}$), para los lixiviados de las columnas de suelo S1 y S2 enmendados con SW-SPERM y ALP.

Tratamiento			[FM] _{máx} (mg/l)	VP _{máx}	FR _{teor-1}	FR _{teor-2}	
S1	Sin enmendar		0.43 ± 0.03 ^a	3.3	3.3	3.3	
	SW-SPERM	1%	0.38 ± 0.01	5.0	5.0	3.9	
		2%	0.33 ± 0.01	5.7	6.6	4.9	
		5%	0.10 ± 0.01	7.4	11.1	7.5	
	ALP	1%	0.50 ± 0.07	3.3	3.4	3.3	
		2%	0.46 ± 0.04	3.3	3.5	3.3	
		5%	0.41 ± 0.01	3.3	3.6	3.3	
		2% mezcla	0.32 ± 0.04	3.6	4.8	3.8	
	S2	Sin enmendar		1.81 ± 0.07	1.8	1.8	1.8
		SW-SPERM	1%	0.69 ± 0.10	2.6	3.7	2.0
2%			0.49 ± 0.12	4.0	5.5	2.2	
5%			0.26 ± 0.03	6.6	10.5	3.9	
ALP		1%	1.92 ± 0.11	1.8	2.0	1.9	
		2%	1.86 ± 0.07	1.8	2.0	1.9	
		5%	1.83 ± 0.01	1.8	2.2	2.0	
		2% mezcla	1.16 ± 0.11	2.1	3.5	3.3	

^a media \pm error estándar

La enmienda con ALP, cuando se realizó del mismo modo que en el caso de la organoarcilla, es decir, aplicada a los primeros 1.25 cm de suelo, no produjo cambios tan importantes como lo hizo la organoarcilla. El herbicida alcanzó sus máximos de concentración en los suelos enmendados a $VP_{\text{máx}}$ de 3.3 y 1.8 para S1

y S2, respectivamente, es decir, a valores muy próximos a los de los suelos sin enmendar (Tabla IV.13). Únicamente se produjo un cambio significativo en el patrón de lixiviación del herbicida cuando se aumentó la dosis de enmienda llevándola al 2% en toda la columna (ALP-2%-mezcla), observándose en este caso un ligero desplazamiento de las curvas de elución, así como cierto achatamiento de las mismas (Fig. IV.22 y IV.23, Tabla IV.13). Estos datos demuestran una eficacia mucho mayor de la organoarcilla en comparación con ALP a la hora de reducir la lixiviación de fluometurón en los suelos estudiados, pues SW-SPERM llegó a producir un efecto más marcado en las curvas de lixiviación que ALP incluso aplicada a dosis 30 veces inferiores que el residuo orgánico.

En la Tabla IV.13 se incluyen los *factores de retardo* teóricos, FR_{teor} , para la lixiviación del herbicida fluometurón en las columnas de suelo enmendado, que pueden compararse con el volumen de poro al cual aparece la concentración máxima para los diferentes tratamientos. El FR refleja el número de volúmenes de poro al cual aparece el máximo de concentración de herbicida en los lixiviados (Flores-Céspedes et al., 2002) y de forma teórica puede calcularse (ver Ec. I.9), asumiendo condiciones de adsorción lineal, instantánea y reversible, a través de la siguiente expresión (Rao et al., 1985):

$$FR_{teor} = 1 + \frac{\rho}{\theta} K_d$$

donde ρ se corresponde con la densidad aparente del suelo en la columna expresada en g/cm^3 , θ es el contenido volumétrico de agua del suelo dado en cm^3/cm^3 y K_d (cm^3/g) es el coeficiente de distribución para el herbicida en las columnas de suelo, que para los suelos enmendados se calculó usando la Ec. VI.4, bien a partir de los coeficientes de distribución individuales y las fracciones de suelo y enmienda presentes en la columna (FR_{teor-1}) (Voudrias, 2002; Rodríguez-Cruz et al., 2007) o bien a partir de los K_d experimentales de los suelos enmendados y sin

enmendar recogidos en la Tabla IV.10 y las fracciones de suelo enmendado y sin enmendar en la columna de suelo (FR_{teor-2}).

En la Tabla IV.13 puede comprobarse que los valores de $VP_{m\acute{a}x}$ para los suelos sin enmendar fueron idénticos a los factores de retardo calculados teóricamente, FR_{teor} , lo que indica la validez de las premisas iniciales de linealidad, equilibrio y reversibilidad. Los datos de la Tabla IV.13 también reflejan que para los suelos enmendados con SW-SPERM, los valores de FR_{teor-1} por lo general sobreestimaron la retención del herbicida en la columna de suelo, mientras que los valores de FR_{teor-2} la subestimaron. Este resultado sugiere que los procesos que restan eficacia a la organoarcilla como adsorbente de fluometurón en presencia de suelo tienen una menor incidencia en condiciones de lixiviación en columna que bajo las condiciones experimentales en la que se llevaron a cabo los experimentos de adsorción. Para los suelos enmendados con ALP, los FR_{teor} predicen un ligero aumento en la retención del herbicida que en la práctica sólo llega a observarse parcialmente cuando se enmendó toda la columna al 2% con el residuo orgánico (Tabla IV.13).

Una característica interesante de la curva de lixiviación de fluometurón en la columna ALP-2%-mezcla en S1, fue la aparición de un pequeño máximo centrado en torno a 50 ml de agua añadida, es decir, en la zona de lixiviación del herbicida endógeno presente en S1 (Fig. IV.22). Una posible explicación para la aparición de este máximo podría ser el incremento en materia orgánica soluble (MOS) presente en la columna tras la enmienda con alperujo y que pudo haber favorecido el movimiento del herbicida endógeno en la primera fase del experimento de lixiviación. Las elevadas concentraciones de carbono orgánico disuelto en los primeros lixiviados del experimento apoyarían esta explicación (Fig. IV.24). Trabajos previos han demostrado que las elevadas concentraciones de MOS en suelos tratados con diferentes enmiendas orgánicas pueden favorecer el movimiento de herbicidas bien por interacción directa del herbicida con la MOS, bien como consecuencia de procesos de competencia en los que la MOS desplaza al herbicida de los sitios de adsorción en el suelo, facilitando su desorción y lixiviado (Celis et al., 1998a; Pignatello, 1998; Cox et al., 2007; Barriuso et al., 2011).

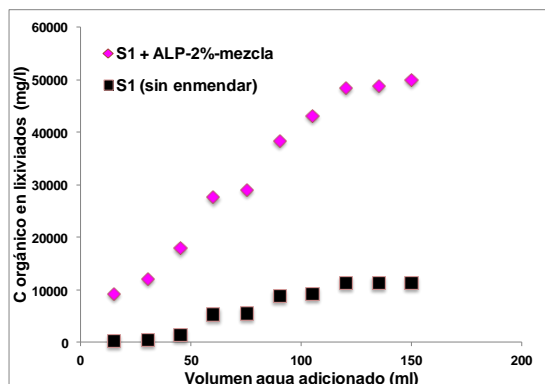


Figura IV.24. Concentración de C orgánico soluble en los lixiviados recogidos para los primeros 150 ml de agua añadidos a columnas de suelo S1 sin enmendar y enmendado con ALP-2%-mezcla.

Curvas de elución acumuladas. La recuperación acumulativa de fluometurón en los lixiviados recogidos durante el experimento de lixiviación puede observarse en las curvas acumuladas representadas en las Figuras IV.22 y IV.23 y se resume también en los datos contenidos en la Tabla IV.11, que incluye el balance de masas del experimento de lixiviación. La cantidad total de herbicida lixiviado en el suelo S1 sin enmendar (aproximadamente un 58% del aplicado) fue menor que en S2 (~80%), lo que puede atribuirse a una mayor degradación del herbicida en el suelo S1 y, tal vez, a la formación de residuos no extractables en dicho suelo, dada su textura arcillosa y presencia de poros de pequeño tamaño (Fig. IV.1). La enmienda con SW-SPERM redujo la cantidad total de fluometurón lixiviada en S2 respecto al suelo sin enmendar, desde un 80% hasta un 39-62%, dependiendo del porcentaje de enmienda aplicado. Para el suelo S1, SW-SPERM redujo significativamente la lixiviación del herbicida sólo para la dosis de enmienda más elevada del 5%. Si comparamos la movilidad de fluometurón en los suelos enmendados con ALP, las cantidades totales de fluometurón recuperadas fueron similares en todos los casos a las de los suelos sin enmendar: 56-61% para S1 y 83-86% para S2. Ni siquiera la enmienda con ALP al 2% en toda la columna, a pesar de reducir las concentraciones del herbicida en los lixiviados, consiguió reducir la cantidad total eluida. En consecuencia, el patrón de lixiviación de fluometurón estuvo marcado por

IV. Resultados y Discusión

la naturaleza del suelo al que se aplica, el tipo de enmienda y la dosis de la misma añadida al suelo.

Tabla IV.14. Porcentaje de fluometurón lixiviado, extraído de las columnas y no recuperado durante el experimento de lixiviación con los suelos S1 y S2.

Tratamiento			Lixiviado	Extraído ----- (%) -----	No recuperado
S1	Sin enmendar		58 ± 1 ^a	5 ± 1	37
	SW-SPERM	1%	61 ± 1	9 ± 1	30
		2%	58 ± 1	15 ± 2	27
		5%	30 ± 1	10 ± 1	61
	ALP	1%	61 ± 6	7 ± 1	32
		2%	58 ± 3	8 ± 1	34
		5%	56 ± 1	8 ± 1	36
		2% mezcla	56 ± 5	6 ± 1	38
	Sin enmendar		79 ± 2	< 1	21
	S2	SW-SPERM	1%	62 ± 3	< 1
2%			55 ± 7	< 1	45
5%			39 ± 6	< 1	61
ALP		1%	86 ± 5	< 1	14
		2%	81 ± 1	< 1	19
		5%	79 ± 2	< 1	21
		2% mezcla	83 ± 8	< 1	17

^a media ± error estándar

Tras los estudios de lixiviación se determinó el herbicida residual en las columnas de suelo mediante extracción con disolución metanólica. Las cantidades recuperadas se dan en la Tabla IV.14. Las cantidades de fluometurón no

recuperadas en el balance de masas se pueden atribuir a herbicida degradado durante el experimento de lixiviación y/o a la formación de residuos irreversiblemente adsorbidos en el suelo (Albarrán et al., 2003; Cornejo et al., 2008b). Es importante destacar que estas cantidades de herbicida no recuperadas fueron, para cada tratamiento, mayores para el suelo S1 que para el S2, debido a la mayor degradación del herbicida en el suelo S1 y, tal vez, a la formación de residuos irreversiblemente adsorbidos. Para el suelo S2, las cantidades de herbicida extraídas de las columnas fue $< 1\%$ de la añadida, mientras que para S1 se extrajeron pequeñas cantidades residuales. Esto está de acuerdo con la tendencia que muestran las curvas de elución relativas, donde las concentraciones de fluometurón en los últimos lixiviados recogidos fueron insignificantes para el suelo S2, pero no para el suelo S1 (Fig. IV.22 y IV.23). La distribución de fluometurón en las columnas de suelo S1 tras finalizar el experimento de lixiviación (Fig. IV.25) reflejan un aumento en la concentración de herbicida con la profundidad, lo cual es característico de una fracción residual de herbicida que todavía queda por lixiviar y que es probable que hubiera lixiviado si el experimento se hubiera prolongado durante más tiempo.

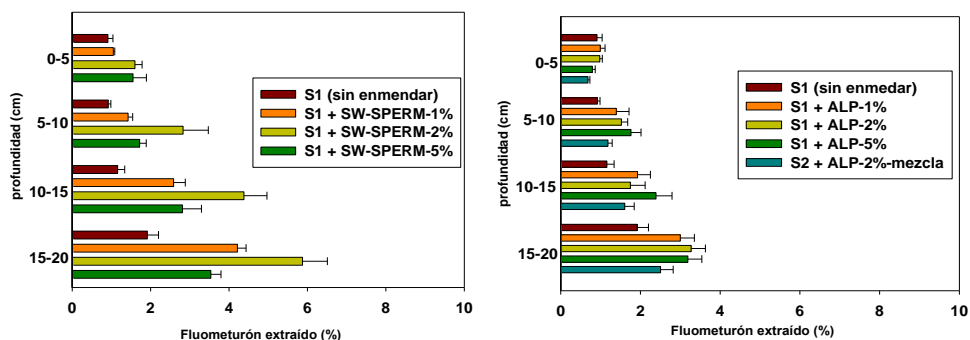


Figura IV.25. Distribución de fluometurón en las columnas de suelo de S1 enmendadas con SW-SPERM (izquierda) y ALP (derecha) al finalizar el experimento de lixiviación.

En definitiva, el uso de SW-SPERM y ALP modificó el patrón de lixiviación de fluometurón, especialmente en el caso de la organoarcilla. La organoarcilla, así

como el alperujo añadido a altas dosis, dieron lugar a menores concentraciones de herbicida en los lixiviados y a un retraso en la lixiviación del mismo. El grado de modificación del perfil de lixiviación es función de la naturaleza del suelo y de la naturaleza y cantidad de enmienda aplicada, variables a tener en consideración para alcanzar el patrón de lixiviación deseado ante diferentes situaciones medioambientales.

IV.3.1.5. Bioensayos: eficacia biológica

IV.3.1.5.1. Bioensayo general

La acción herbicida de fluometurón en los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados con SW-SPERM y ALP se ensayó en el laboratorio por medio de bioensayos en los que se utilizó jaramago (*Eruca vesicaria*) como planta sensible al herbicida, con buena tasa de germinación y rápido crecimiento. Para ello, se prepararon macetas con los suelos sin enmendar o con los primeros 1.25 cm enmendados con SW-SPERM o ALP en proporciones del 1, 2 y 5%, se sembraron semillas de jaramago (*Eruca vesicaria*) e inmediatamente después se aplicó una dosis de fluometurón equivalente a 2 kg/ha. En paralelo, se prepararon macetas control (sin aplicación de herbicida) enmendadas y sin enmendar que revelaron que las enmiendas en sí no afectaron al crecimiento de la planta usada en los bioensayos. La eficacia del herbicida para los diferentes tratamientos se determinó cotejando tanto las medidas de reducción del peso herbáceo fresco aéreo a las dos semanas de la siembra/aplicación del herbicida (Fig. IV.26) como mediante un control visual de las macetas durante las dos semanas que duró el experimento (Fig. IV.27).

En el suelo S1, tanto SW-SPERM como ALP tuvieron un efecto similar en la eficacia biológica del herbicida, observándose una reducción de un 82% de la biomasa aérea de *Eruca vesicaria* respecto a las macetas control sin herbicida. Este valor fue sólo ligeramente inferior al de 91% obtenido para el herbicida aplicado a las macetas sin enmendar (Fig. IV.26). En el suelo S2 la eficacia de fluometurón se vio

reducida a medida que la dosis de enmienda incrementaba, especialmente para SW-SPERM, lo que apunta a una disminución de la biodisponibilidad del herbicida respecto a la planta a dosis elevadas de organoarcilla. El porcentaje óptimo de enmienda para S2 resultó ser del 1%, el menor aplicado, para el que la eficacia biológica del herbicida se mantuvo muy próxima a la observada en el suelo sin enmendar. Esto indica que con bajas dosis de organoarcilla es posible combinar dos efectos: una reducción de la movilidad del herbicida a través del perfil del suelo y una adecuada eficacia biológica (Fig. IV.26 y IV.27).

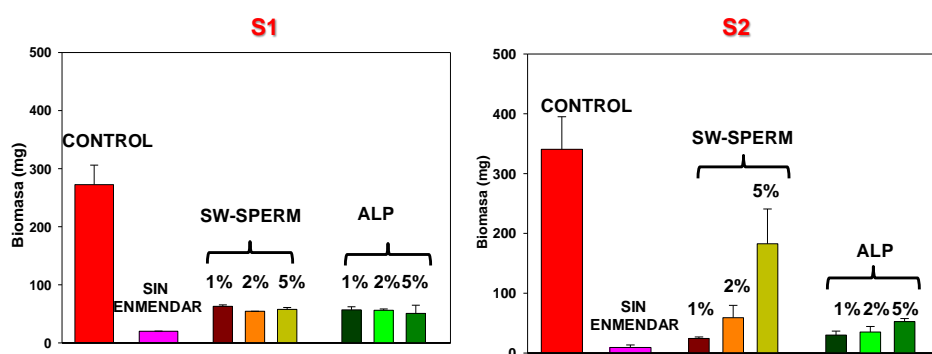


Figura IV.26. Peso herbáceo fresco de las macetas dos semanas después de la aplicación del herbicida.

Los resultados ponen de manifiesto que hay que optimizar el proceso de enmienda, en función de la naturaleza del suelo y tipo de enmienda, contemplando que un aumento en la adsorción del herbicida consecuencia de la adición de la enmienda puede ser beneficioso para evitar la contaminación de suelos y aguas subterráneas pero repercute en la acción herbicida del agroquímico. Es necesario alcanzar una situación de compromiso para minimizar la cantidad de enmienda a adicionar y optimizar los efectos combinando adsorción y efectividad.

S2



Figura IV.27. Resultados de los bioensayos realizados en S2 con jaramago (*Eruca vesicaria*). Efectos de la adición de las enmienda SW-SPERM y ALP a 1%, 2% y 5% en la eficacia del herbicida fluometurón.

IV.3.1.5.2. Bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación

Se llevó a cabo un segundo tipo de bioensayo para verificar si SW-SPERM podría aumentar la eficacia del herbicida fluometurón en condiciones de un aporte de agua elevado poco después de la aplicación del producto fitosanitario, como resultado de una disminución de las pérdidas de herbicida por lixiviación. Para esta prueba se seleccionó el suelo S2, por presentar menor capacidad de retención y, por tanto, mayor riesgo de lixiviación para fluometurón.

El experimento consistió en añadir 300 ml de agua (60 l/m^2) justo después de aplicar el herbicida (2 kg/ha) a macetas de suelo S2, enmendadas con SW-SPERM (1%, 1.25 cm) y sin enmendar, según se describe en el apartado III.2.4.1.4.2. A continuación, se sembraron las semillas de *Eruca vesicaria* y se determinó la eficacia biológica del herbicida durante las dos semanas siguientes.

El análisis de los lixiviados de las macetas reveló que, tras el aporte de agua de 60 l/m^2 , el $88 \pm 2\%$ del herbicida aplicado se había perdido por lixiviación en la maceta de suelo sin enmendar, mientras que la maceta enmendada con SW-

SPERM-1% había perdido sólo el $40 \pm 3\%$ del fluometurón aplicado. La Figura IV.28 muestra que la cantidad de herbicida restante que permaneció en la maceta enmendada con SW-SPERM ejerció un control del crecimiento de la planta mucho mejor que el ejercido por el herbicida aplicado a las macetas sin enmendar. Este hecho se confirma además con la inspección visual de las macetas (Fig. IV.29), donde se aprecia la mayor eficacia biológica del herbicida aplicado a las macetas de suelo enmendado con SW-SPERM. Así, la enmienda fue capaz de retener la suficiente cantidad de herbicida aplicado, tras el aporte de agua, para que éste ejerciera su función, mejorando su rendimiento frente a la maceta de suelo sin enmendar, donde se produjo una pérdida masiva de herbicida que redujo considerablemente su eficacia biológica.

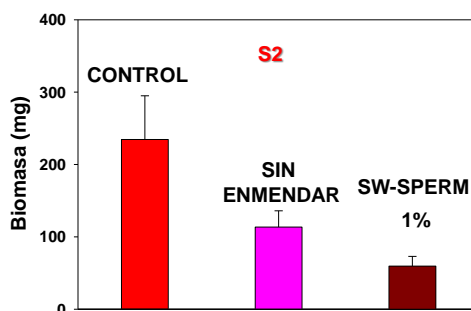


Figura IV.28. Peso herbáceo fresco de las macetas en el bioensayo con simulación de lluvia abundante tras la aplicación de fluometurón.

A la luz de los resultados obtenidos, es de destacar que una situación real análoga a la simulada en este experimento, esto es, un episodio de lluvia abundante poco después de la aplicación del herbicida, probablemente hubiera obligado a una segunda aplicación de fluometurón. Por el contrario, en un suelo tratado con una dosis adecuada de SW-SPERM, la organoarcilla podría disminuir las pérdidas por lixiviación del herbicida, reteniéndolo en el horizonte superficial y manteniendo un mejor control de las malas hierbas a combatir.



Figura IV.29. Resultados de los bioensayos realizados en S2 con jaramago (*Eruca vesicaria*). Efectos de la adición de la enmienda SW-SPERM al 1% en condiciones de elevado aporte de agua poco después de la aplicación del herbicida fluometurón.

IV.3.1.6. Adición del catión espermina para la modificación “in situ” de la arcilla del suelo y su efecto en el comportamiento del herbicida fluometurón

Los resultados expuestos en los apartados anteriores han demostrado la capacidad adsorbente de SW-SPERM para fluometurón y su potencial como enmienda para optimizar el comportamiento del herbicida en suelos agrícolas. A tenor de dichos resultados, una parte de esta memoria se dedicó a evaluar la posibilidad de modificar “in situ” la arcilla de los suelos a través de la adición directa del catión orgánico espermina y comprobar los efectos de dicha modificación en la dinámica del herbicida fluometurón.

El objetivo a desarrollar en este apartado fue profundizar en la posibilidad de que espermina pudiera reaccionar en suelos con elevado contenido en esmectitas, con la formación in situ de un complejo organoarcilloso que pudiera incrementar la capacidad de retención del suelo, retrasar la lixiviación del herbicida y mejorar su eficacia. Este mecanismo de modificación in situ de la arcilla del suelo, alternativo a la adición directa de la organoarcilla, ha sido utilizado por otros autores como una vía de inmovilización de contaminantes, usando cationes orgánicos del tipo alquilamonio (Boyd et al., 1988; Sánchez et al., 2003; Rodríguez-Cruz et al., 2007). Dentro de este contexto, también es posible considerar que una vez quede retenido el herbicida por efecto de la adición del catión orgánico, se produzca un efecto inmovilizante que pueda ayudar a reducir las pérdidas de herbicida y aumentar su eficacia, de forma similar a lo encontrado para la adición directa de organoarcilla.

El protocolo seguido en este apartado fue determinar el efecto de la adición de espermina a diferentes suelos en la adsorción de fluometurón para posteriormente evaluar la repercusión de la adición del catión orgánico en el proceso de lixiviación y en la persistencia del herbicida.

IV.3.1.6.1. Estudio de adsorción

En primer lugar, se llevó a cabo un estudio de adsorción a una concentración inicial de fluometurón de 1 mg/l para determinar el efecto de la adición de espermina en la adsorción del herbicida a los suelos S1, S2, S3 y S4 y establecer la posible relación entre dicho efecto y el contenido en esmectitas de los suelos. En este experimento la cantidad de espermina añadida fue la equivalente al 100% de la C.I.C. de cada suelo.

Los porcentajes de fluometurón adsorbidos por los cuatro suelos sin tratar y tratados con una cantidad de espermina equivalente al 100% de la C.I.C. de cada uno se exponen en la Figura IV.30, mientras que los valores de los coeficientes de distribución resultantes se recogen en la Tabla IV.13. Hay que señalar que en este caso la muestra de suelo S1 utilizada no presentó ninguna cantidad residual de fluometurón, tal y como se comprobó antes del inicio del experimento mediante extracción con metanol y análisis del extracto.

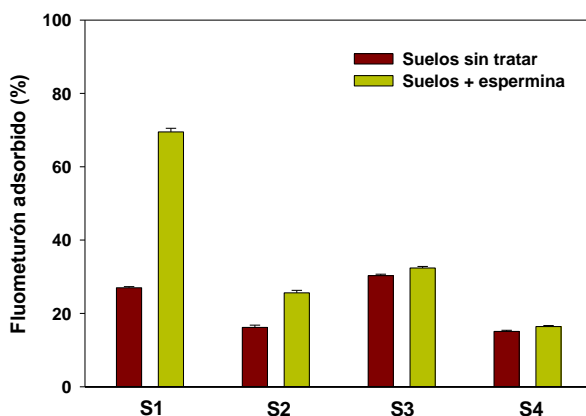


Figura IV.30. Porcentaje de fluometurón adsorbido por los suelos en ausencia de espermina y en presencia de una cantidad de espermina equivalente al 100 % de la C.I.C. de cada suelo a una concentración de herbicida de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 4 g:8 ml.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el apartado IV.3.1.2, en los suelos sin tratar la mayor adsorción de fluometurón tuvo lugar para S1 y S3, como

reflejan tanto los porcentajes de adsorción como los valores del coeficiente de distribución, K_d (Fig. IV.30 y Tabla IV.15), lo que se relaciona con los mayores contenidos de estos suelos en arcilla y materia orgánica.

La adición de espermina provocó el incremento más importante en la adsorción de fluometurón en el suelo S1, es decir, el suelo con mayor contenido en esmectitas (17%), mientras que en los suelos S3 y S4, prácticamente carentes de minerales esmectíticos (< 5%), el efecto de la adición de espermina fue muy pequeño. En el suelo S2, con un contenido intermedio en esmectitas (10%), la adición de espermina tuvo un efecto también intermedio. Claramente, el incremento de la adsorción de fluometurón por la adición de espermina dependió del contenido en esmectitas, siguiendo el siguiente orden decreciente (Fig. IV.30 y Tabla IV.15):

$$S1 > S2 > S3 \sim S4$$

Tabla IV.15. Contenido de esmectitas en los suelos y coeficientes de distribución obtenidos experimentalmente, K_{d-exp} , para la adsorción de fluometurón en suelos sin tratar y tratados con espermina.

Suelo	Contenido esmectítico de suelo ---- % ----	Sin tratar	Tratado con espermina
		K_{d-exp}	K_{d-exp}^a
		----- l/Kg -----	-----
S1	17	0.74 ± 0.01^b	5.60 ± 0.20
S2	10	0.39 ± 0.02	0.69 ± 0.03
S3	0	0.87 ± 0.02	0.96 ± 0.02
S4	3	0.36 ± 0.01	0.39 ± 0.01

^a Valores de K_d para los suelos tratados con una cantidad igual a la C.I.C. de cada suelo.

^b media \pm error estándar

En términos de K_d , los resultados de la Tabla IV.15 muestran que el coeficiente de distribución K_d para el suelo S1 aumentó un 650% por el tratamiento

con espermina, mientras que para los suelos S3 y S4 el aumento fue de sólo un 10%. Este pequeño incremento del 10% podría explicarse bien por la pequeña cantidad de esmectitas presente en S4 o por una cierta actividad de los abundantes minerales ilíticos presentes en el suelo S3 (Tabla IV.15). En el caso del suelo S2, el aumento en el valor de K_d por la adición de espermina fue del 77%.

Se infiere, por tanto, que en función de las características del suelo, la adición del catión orgánico ocasionó un comportamiento diferente respecto a la adsorción del herbicida, quedando patente que el contenido esmectítico del suelo es un factor clave para la formación “in situ” de la enmienda.

El efecto de la cantidad de espermina añadida al suelo en el incremento de la adsorción de fluometurón se estudió utilizando el suelo S1, por ser el suelo con mayor contenido en esmectitas y en el que la adición de espermina produjo un mayor efecto en la adsorción del herbicida. Los resultados se muestran en la Figura IV.31.

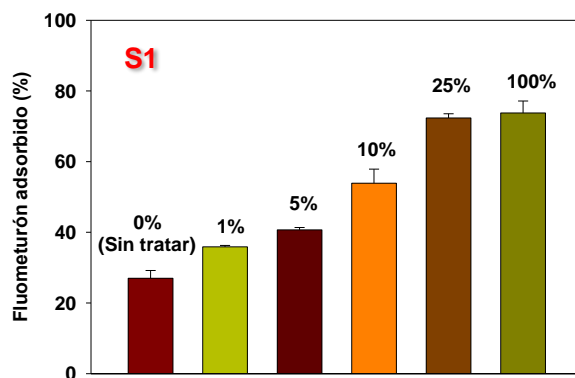


Figura IV.31. Porcentaje de fluometurón adsorbido en S1 tratado con cantidades de espermina equivalentes a 0, 1, 5, 10, 25 y 100 % de la C.I.C. del suelo a una concentración de herbicida de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 4 g:8 ml.

La adsorción del herbicida aumentó progresivamente con la cantidad de espermina añadida hasta alcanzar el 25% de la C.I.C. del suelo; añadir más espermina, hasta el 100% de C.I.C., no se tradujo en una mayor adsorción de

fluometurón. Trabajos previos han demostrado que aunque contenidos crecientes de catión orgánico en organoarcillas aumentan el grado de hidrofobicidad del adsorbente, una máxima transformación de la naturaleza de la superficie del mineral de hidrofílica a hidrofóbica no siempre lleva asociada una máxima adsorción de compuestos orgánicos (El-Nahhal et al., 1998, 2001; Carrizosa et al., 2000; Nir et al., 2000; Cruz-Guzmán et al., 2004; Cornejo et al., 2008a). Esto es debido a que elevados contenidos de catión orgánico pueden provocar una cierta congestión o saturación del espacio interlamilar, formándose estructuras compactas y con poco espacio disponible para la adsorción del compuesto orgánico (Nir et al., 2000; Cornejo et al., 2008a). Este tipo de efecto podría haber ocurrido tras añadir elevadas cantidades de espermina al suelo S1, explicando así que la cantidad de fluometurón adsorbido para una cantidad de espermina añadida igual al 100% de la C.I.C. del suelo fuera similar a la adsorbida por el suelo tratado al 25% de la C.I.C. Asimismo, es probable que no toda la C.I.C. del suelo corresponda a minerales esmectíticos, de forma que la interacción de espermina con otros componentes como la materia orgánica o los óxidos metálicos no causara efecto en la adsorción del herbicida.

Un detalle a destacar es que los porcentajes de adsorción máximos observados en este experimento coinciden con el obtenido tras realizar la enmienda del suelo S1 con SW-SPERM al 1% (ver datos presentados en el apartado IV.3.1.2), porcentaje que finalmente, se comprobó como el idóneo para alcanzar una óptima combinación retención-eficacia del herbicida.

IV.3.1.6.2. Experimento de lixiviación en columnas

Para el estudio de lixiviación se seleccionaron los suelos S1 y S3 por su comportamiento marcadamente diferente respecto a la adsorción de fluometurón tras la adición de espermina, como consecuencia de que su diferente composición esmectítica, pese a presentar ambos una textura (arcillosa) muy similar (Fig. IV.30 y Tabla IV.16).

La Figura IV.32 muestra las curvas de elución de fluometurón, relativas y acumulativas, en los suelos S1 y S3 sin tratar y tratados con una cantidad de

IV. Resultados y Discusión

espermina equivalente al 100% de la C.I.C. de los primeros 2.5 cm de las columnas (20 g de suelo). En el caso de los suelos sin tratar, las concentraciones de fluometurón en los lixiviados de S3 fueron considerablemente mayores que las medidas en los lixiviados de S1, si bien para ambos suelos el máximo de concentración de herbicida apareció a un total de agua añadida de 195 ml, equivalente a 3.1 volúmenes de poro ($VP_{m\acute{a}x}$) (Fig. IV.32). Esto concuerda con los factores de retardo teóricos (FR_{teor}) calculados según la Ec. I.9 y que se recogen en la Tabla IV.16: 2.9 (183 ml) para S1 y 3.2 (202 ml) para S3. En consecuencia, condiciones de adsorción lineal, instantánea y reversible describieron adecuadamente el movimiento de fluometurón a través de las columnas de suelo S1 y S3, como ya se había observado en el apartado IV.3.1.4 para los suelos S1 y S2.

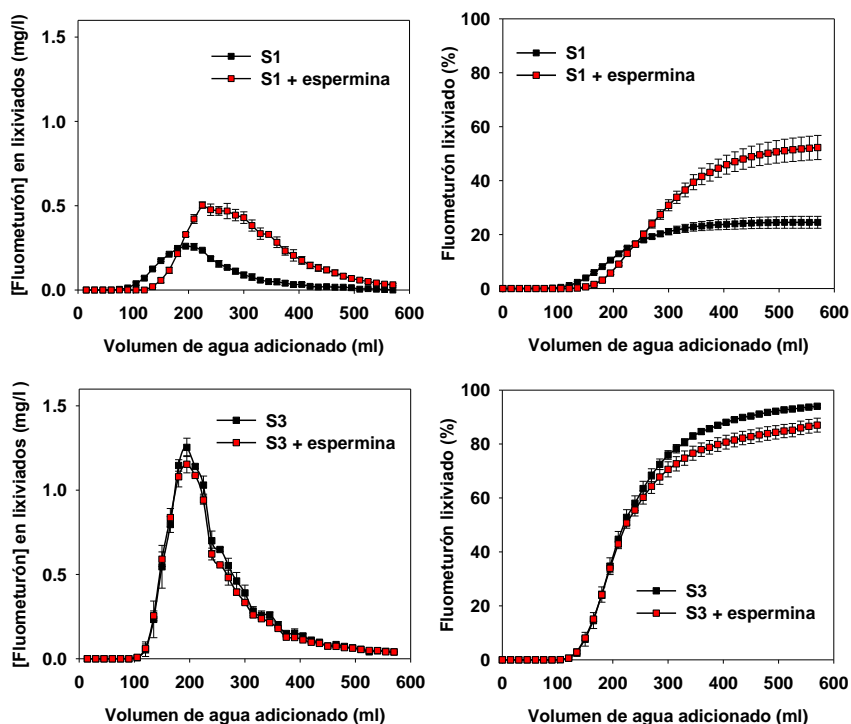


Figura IV.32. Curvas de elución relativas (izquierda) y acumuladas (derecha) para fluometurón aplicado a las columnas de suelo S1 y S3, sin tratar y tratados con espermina.

Las cantidades totales de herbicida lixiviado en ambos suelos fueron muy diferentes, como muestran las curvas de lixiviación acumulativas (Fig. IV.32). En S3, más del 90% de fluometurón aplicado fue recuperado en los lixiviados, mientras que para el suelo S1 se recuperó sólo un 25 %. Teniendo en cuenta que las cantidades residuales de herbicida extraídas de las columnas tras finalizar el experimento fueron muy pequeñas (< 5%), la cantidad de herbicida no lixiviada debió corresponder principalmente a procesos degradativos en las columnas de suelo, con la posibilidad de alguna contribución de adsorción irreversible. Considerando que el suelo S1 había recibido durante años repetidas aplicaciones de fluometurón como práctica agrícola, es muy probable que la rápida degradación del herbicida por microorganismos adaptados (Cox et al., 1996; Sorensen et al., 2003b) fuera la causa de la escasa recuperación de fluometurón en los lixiviados de las columnas.

Tabla IV.16. Volumen de poro al cual apareció la concentración máxima de herbicida (VP_{max}) en los lixiviados y factores de retardo teóricos (FR_{teor}) para el experimento de lixiviación en suelos sin tratar y tratados con espermina.

Suelo	Sin tratar		Tratado con espermina	
	VP_{max}	FR_{teor}	VP_{max}	FR_{teor}
S1	3.1	2.9	4.0	4.4
S3	3.2	3.2	3.2	3.2

Cuando fluometurón fue coaplicado con espermina en S1 se produce un desplazamiento de las curvas de elución relativas hacia volúmenes de poro mayores, mientras que este efecto es inapreciable en S3 (Fig. IV.32). Esto se puede relacionar con el aumento en la adsorción del herbicida provocado por la presencia de espermina en S1 y con el escaso efecto en la adsorción provocado por la adición de espermina en S3 (Fig. IV.30). La posición del pico de máxima concentración de herbicida en los lixiviados de S1 apareció alrededor de los 250 ml de agua adicionados ($VP_{max} = 4.0$). Este valor fue cercano al previsto por el factor de retardo teórico, $FR_{teor} = 4.4$ ó 250 ml (Tabla IV.16), que puede calcularse asumiendo que

espermina interacciona con los primeros 2.5 cm del suelo S1 de la columna incrementando el valor de K_d de dicho perfil desde 0.74 a 5.60 l/kg (Tabla IV.15). La posición del pico de máxima concentración a $VP_{max}= 3.2$ en el suelo S3 no se vió alterada por la adición de espermina (Tabla IV.16), tal y como predice el escaso efecto de ésta en el valor de K_d para fluometurón en este suelo.

Otro efecto a destacar de los resultados de lixiviación es que el retraso en la lixiviación de fluometurón observado tras la adición de espermina al suelo S1 estuvo acompañado de un aumento en la cantidad total de herbicida lixiviado, del 25% en el suelo sin tratar al 52% en el suelo tratado con espermina. Este resultado apunta a que la adición de espermina podría haber incrementado la persistencia del herbicida en la columna de suelo, aumentando la cantidad total lixiviada.

IV.3.1.6.3. Experimento de incubación

Para comprobar el posible efecto de la adición de espermina en la persistencia del herbicida fluometurón en el suelo S1 se llevó a cabo un estudio de incubación en el que se comparó la disipación del herbicida en el suelo sin tratar y tratado con una cantidad de espermina equivalente al 100 % de la C.I.C del suelo (Fig. IV.33).

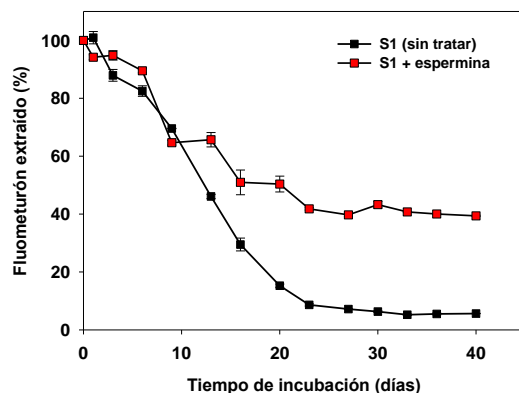


Figura IV.33. Curvas de disipación de fluometurón en S1 sin tratar y tratado con espermina.

Atendiendo a la Figura IV.33, la presencia de espermina tuvo un claro efecto en la disipación de fluometurón en el suelo S1. Las curvas mostraron de nuevo una forma sigmoideal, propia de degradación de compuestos utilizados como sustrato de crecimiento microbiano, y pusieron de manifiesto cómo el catión orgánico incrementó la persistencia del herbicida. Aunque podría pensarse que el incremento de la adsorción de fluometurón, provocado por la espermina añadida, podría haber protegido al herbicida de ser degradado y/o haber favorecido la formación de enlaces irreversibles, en el apartado anterior se comprobó que un incremento en la adsorción por parte de SW-SPERM no limitó la degradación de fluometurón. Trabajos previos han demostrado que otros herbicidas del tipo fenilurea soportados en organoarcillas no veían atenuada su biodisponibilidad para ser degradados por los microorganismos del suelo (Trigo et al., 2009). Como explicaciones alternativas están que espermina habría podido actuar como fuente alternativa de carbono y nitrógeno para los microorganismos degradadores de fluometurón en el suelo o incluso haber ejercido un cierto efecto tóxico sobre los mismos. Ambas situaciones darían como resultado un aumento de la persistencia del herbicida en el suelo tratado con espermina. En cualquier caso y con independencia de la causa concreta por la que la persistencia de fluometurón se ve aumentada en el suelo S1 tratado con espermina, de los resultados presentados en este apartado se deriva que la aplicación de espermina sería una estrategia útil para aumentar la adsorción, retrasar la lixiviación y prolongar la persistencia de fluometurón en suelos esmectíticos en los que, por ejemplo, una degradación excesivamente rápida del herbicida originada por aplicaciones sucesivas pudiera repercutir negativamente en la eficacia biológica del producto fitosanitario.

IV.3.2. Mecoprop y Mecoprop-P

En este apartado se presenta el estudio del comportamiento de los herbicidas mecoprop (MCPP) y mecoprop-P (MCP-P) en suelos tratados con organoarcillas y con residuos de almazara, en el contexto de utilizar estos materiales como enmiendas agrícolas para optimizar el comportamiento de herbicidas aniónicos en suelos. MCP-P y MCP-P son ácidos débiles que al pH de la mayoría de los suelos se encuentran en forma aniónica, presentando por ello una elevada movilidad. Conjuntamente, se evalúan las posibles diferencias entre MCP-P y MCP-P respecto a la adsorción, persistencia, lixiviación y bioeficacia, correspondiendo MCP-P a la mezcla racémica (R y S) y MCP-P al isómero activo purificado (R) de la molécula de herbicida.

IV.3.2.1. Estudios de adsorción-desorción a los adsorbentes

Al igual que en el caso de fluometurón, en primer lugar se identificaron los mejores adsorbentes, entre los propuestos en este estudio, para MCP-P y MCP-P, considerando la adsorción como un proceso clave en la disponibilidad y movilidad del herbicida en el suelo y, por lo tanto, en su impacto contaminante y eficacia biológica. Para ello, se midió la adsorción a una única concentración inicial (1 mg/l) para todos los adsorbentes y seguidamente se obtuvieron las isothermas de adsorción-desorción en un rango de concentraciones 0.1-2 mg/l para aquellas muestras que presentaron mayor afinidad por los herbicidas.

IV.3.2.1.1. Adsorción a los adsorbentes a concentración única

Los porcentajes de adsorción obtenidos para MCP-P y MCP-P en las montmorillonitas inalteradas y modificadas y en los alperujos, fresco y compostado, se recogen en las Figuras IV.34 y IV.35.

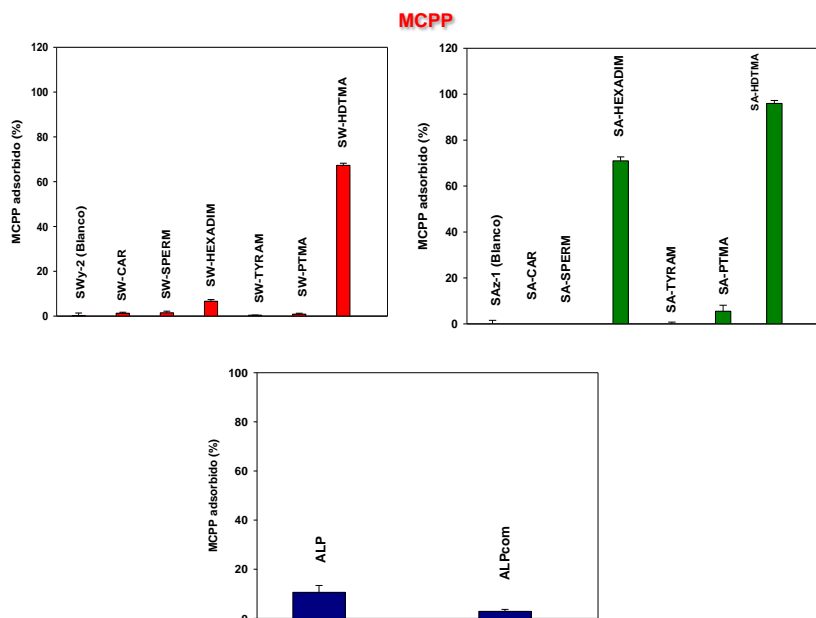


Figura IV.34. Porcentaje de MCPP adsorbido por las muestras de montmorillonitas modificadas y sin modificar y alperujo fresco (ALP) y compostado (ALPcom) a una concentración inicial de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 20 mg:8 ml.

Análogamente a lo observado para fluometurón, la modificación de las montmorillonitas dio como resultado adsorbentes que presentaron una mayor adsorción de MCPP y MCPP-P respecto a las arcillas sin modificar y el grado en que esto ocurrió estuvo supeditado a la naturaleza de la arcilla y del catión modificador.

Por lo general, la baja adsorción de MCPP y MCPP-P para la mayoría de las organoarcillas es debida al carácter aniónico de este herbicida al pH de equilibrio de las suspensiones durante el experimento ($\text{pH} > 6$). La mayor afinidad por los herbicidas la presentaron las organoarcillas SW-HDTMA, SA-HEXADIM y SA-HDTMA, mientras que los alperujos no alcanzaron los niveles de adsorción manifestados por estas organoarcillas.

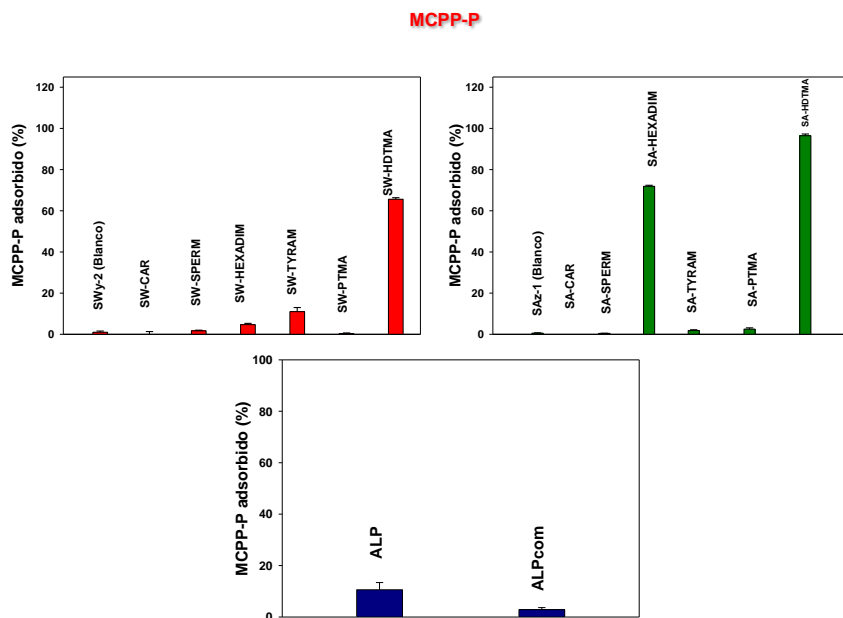


Figura IV.35. Porcentaje de MCPP-P adsorbido por las muestras de montmorillonitas modificadas y sin modificar y alperujo fresco (ALP) y compostado (ALPcom) a una concentración inicial de 1 mg/l y una relación sólido:disolución 20 mg:8 ml.

El incremento en la adsorción de MCPP y MCPP-P para las organoarcillas SW-HDTMA y SA-HDTMA (Fig. IV.34 y IV.35) es similar al observado para fluometurón (Fig. IV.17) y puede atribuirse a interacciones hidrofóbicas entre la región aromática de los herbicidas y las cadenas alquílicas del catión HDTMA asociado a la arcilla. La mayor adsorción que presenta SA-HDTMA respecto a SW-HDTMA se debe a la estructura parafínica de la primera, que con un espaciado basal de 2.4 nm presenta una mayor accesibilidad a su espacio interlaminar que SW-HDTMA, esta última con una estructura en bicapa y un espaciado de 1.8 nm (Tabla IV.2). La mayor capacidad adsorbente de SA-HDTMA respecto a SW-HDTMA también se ha observado para otros herbicidas aniónicos como 2,4-D (Hermosín y Cornejo, 1992, 1993), imazamox (Celis et al., 1999c), bentazona (Carrizosa et al., 2000), dicamba (Zhao et al., 1996; Carrizosa et al., 2001) y MCPA (Celis et al., 2007).

La afinidad de MCPP y MCPP-P por SA-HEXADIM puede explicarse por la dificultad del polímero para introducirse en la interlámina y compensar todas las cargas negativas de la montmorillonita SAz-1. Esta dificultad hace que, probablemente, existan cargas positivas en el polímero sin interaccionar directamente con la superficie de la arcilla, que pueden actuar como sitios de adsorción para MCPP y MCPP-P en sus formas aniónicas, tal y como se ha observado para el herbicida MCPA (Celis et al., 2007).

El resto de organoarcillas, que no incrementaron la adsorción de los herbicidas con la misma intensidad que SW-HDTMA, SA-HDTMA y SA-HEXADIM, posiblemente no establecieron un ambiente tan hidrofóbico como SW-HDTMA o SA-HDTMA o carecían de zonas o grupos funcionales para el establecimiento de interacciones específicas con MCPP y MCPP-P, al contrario que SA-HEXADIM (Cruz-Guzmán et al., 2005; Celis et al., 2007).

La adsorción de MCPP y MCPP-P a los alperujos, ALP y ALPcom, fue muy inferior a la presentada por las organoarcillas SW-HDTMA, SA-HEXAD y SA-HDTMA, resultado similar al encontrado para fluometurón. La adsorción de MCPP y MCPP-P a los alperujos puede atribuirse a interacciones lipofílicas con la materia orgánica de los residuos a través del anillo aromático del herbicida (Hermosín y Cornejo, 1993; Celis et al., 1999b; Cornejo et al., 2008a; Cabrera et al., 2011), de forma que las diferencias apreciadas entre ALP y ALPcom pueden relacionarse con las distintas características de los residuos (ver apartado IV.2.2). ALPcom, además de presentar un menor contenido en C orgánico, posee un valor de pH en disolución mayor (~ 8) que ALP (~ 6), lo que favorece la ionización de los grupos carboxílicos y origina repulsiones con MCPP y MCPP-P por encontrarse éstos desprotonados al pH final de los experimentos (pH > 6 en todos los casos) (Clausen et al., 2001).

Comparando los porcentajes de adsorción de MCPP y MCPP-P desarrollados por las organoarcillas y alperujos respecto a los de fluometurón, hay que apuntar que SA-HDTMA fue la organoarcilla que desplegó una mayor afinidad por todos los herbicidas, con una adsorción comprendida entre el 90-100%. Para SW-HDTMA la adsorción estuvo cercana al 60% en todos los casos, mientras que SW-SPERM y SA-HEXADIM mostraron un comportamiento similar frente a

fluometurón y MCPP/MCPP-P, respectivamente, oscilando la adsorción entre el 60-70%. Los alperujos presentaron una afinidad relativamente baja por los herbicidas con porcentajes de adsorción del 4-10%. Por tanto, como ya se apuntó para fluometurón, también en el caso de herbicidas ácidos una modificación adecuada de los minerales de la arcilla puede dar lugar a organoarcillas con una capacidad adsorbente muy superior a la mostrada por los alperujos.

La Tabla IV.17 recoge los valores de K_d y K_{oc} , obtenidos a la concentración inicial de herbicida de 1 mg/l, para los alperujos y para las organoarcillas que presentaron mayor afinidad por MCPP y MCPP-P. Tanto para MCPP como para MCPP-P, los valores de K_d presentaron el siguiente orden:

$$\text{SA-HDTMA} > \text{SA-HEXADIM} > \text{SW-HDTMA} > \text{ALP} > \text{ALPcom}$$

Los valores de K_{oc} siguieron un orden similar al de los valores de K_d , reflejando la mayor eficacia de la materia orgánica de las organoarcillas en la adsorción de los herbicidas frente a la de ALP y ALPcom (Tabla IV.17). Los valores de K_{oc} encontrados en la bibliografía para la adsorción de MCPP y MCPP-P en suelos oscilan entre 20 y 50 l/kg (PPDB, 2012), si bien es de destacar que a menudo el coeficiente K_{oc} no es un buen indicador para predecir la adsorción de herbicidas aniónicos en suelos (Buss et al., 2006). Por otra parte, no se apreciaron diferencias significativas entre la adsorción de MCPP y MCPP-P por parte de los adsorbentes estudiados, lo cual refleja que no estamos ante adsorbentes enantioselectivos para el compuesto estudiado.

Tabla IV.17. Valores de K_d y K_{oc} para la adsorción de MCP y MCP-P a SW-HDTMA, SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom para condiciones de adsorción 20 mg adsorbente:8 ml de disolución de herbicida de 1 mg/l.

Adsorbente	MCP		MCP-P	
	K_d --- l/kg ---	K_{oc}	K_d --- l/kg ---	K_{oc}
SW-HDTMA	825 ± 37^a	5557	764 ± 25	5148
SA-HEXADIM	983 ± 82	11534	1022 ± 26	11995
SA-HDTMA	10652 ± 3506	47342	11495 ± 2824	51089
ALP	45 ± 13	102	48 ± 14	109
ALPcom	16 ± 1	53	12 ± 3	39

^a media \pm error estándar

IV.3.2.1.2. Isotermas de adsorción-desorción

Las isotermas de adsorción de MCP y MCP-P a adsorbentes seleccionados se exponen en la Figura IV.36, mientras que en la Tabla IV.18 se recopilan los coeficientes K_f , N_f y R^2 , resultantes del ajuste de las isotermas de adsorción a la ecuación empírica de Freundlich, que permiten comparar el comportamiento de los herbicidas en los distintos adsorbentes.

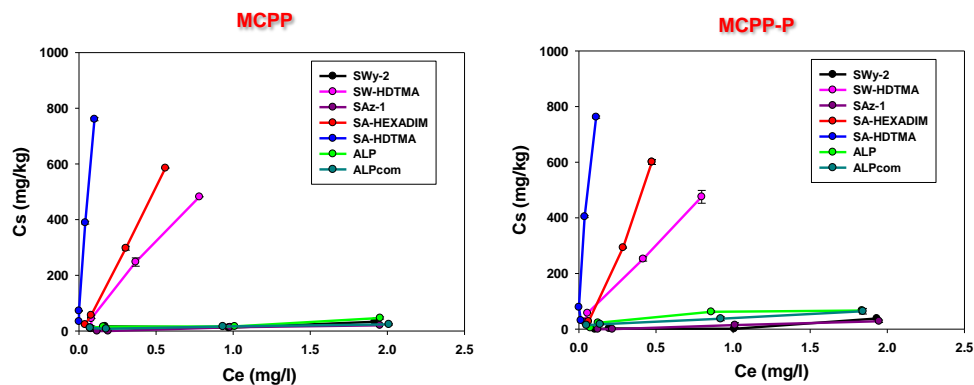


Figura IV.36. Isotermas de adsorción de MCP y MCP-P para los adsorbentes seleccionados.

Las isothermas confirman que la modificación de las montmorillonitas con los cationes orgánicos HDTMA y HEXADIM produce una mejora en la adsorción de los herbicidas en comparación con los minerales sin modificar. Para estos últimos y también para los alperujos, la adsorción de MCPP y MCPP-P es muy pequeña. Hay que tener en cuenta que al pH de los experimentos los herbicidas en cuestión se encuentran en su forma aniónica y esto genera repulsiones con las superficies con carga negativa tanto de las montmorillonitas sin modificar como de los alperujos, limitando la adsorción en estos adsorbentes.

Por lo general, en los casos de muy baja o muy alta adsorción el ajuste de las isothermas de adsorción a la ecuación de Freundlich no fue bueno (Tabla IV.18), por la falta de precisión asociada a las medidas de adsorción en dichas condiciones (Green y Yamame, 1970). Tal fue el caso para SWy-2, SAz-1, SA-HDTMA, ALP y ALPcom, que presentaron bajos coeficientes de regresión tras el ajuste. Los valores de $N_f < 1$ obtenidos para la organoarcilla SW-HDTMA y para los alperujos, tanto con MCPP como con MCPP-P, reflejan isothermas del tipo L según la clasificación de Giles et al. (1960), que indican que a medida que transcurre la adsorción se dificulta que las moléculas de soluto encuentren sitios de adsorción vacantes. Las isothermas de ambos herbicidas para SA-HEXADIM dieron valores de $N_f > 1$, lo que es propio de curvas de tipo S (Giles et al., 1960) en las que las moléculas de plaguicida compiten con las moléculas de agua por los sitios de adsorción y/o se dan interacciones intermoleculares entre las moléculas de herbicida una vez adsorbidas. Estas diferencias en los valores de N_f pueden ser explicadas sobre la base de que los mecanismos que rigen la adsorción de los herbicidas en cada organoarcilla (SW-HDTMA, SA-HDTMA y SA-HEXADIM) difieren entre sí, de modo que valores de $N_f < 1$ se asocian con interacciones hidrofóbicas como ocurre para SW-HDTMA y SA-HDTMA, mientras que los valores de $N_f > 1$ para SA-HEXADIM son compatibles con una contribución iónica en la adsorción del herbicida, probablemente estabilizada por interacciones intermoleculares hidrofóbicas entre las moléculas adsorbidas (Celis et al., 1999b; Carrizosa et al., 2001). Los valores de K_f siguieron la misma tendencia mostrada por los coeficientes de distribución K_d obtenidos a concentración única, con pequeñas diferencias atribuibles a que la condición de linealidad

requerida para que ambos coeficientes coincidan no se cumple en la mayoría de los casos.

Tabla IV.18. Coeficientes de Freundlich para la adsorción de MCPP y MCPP-P en los adsorbentes seleccionados.

	Muestra	K_f	N_f	R^2
MCPP	SWy-2	-- ^a	-- ^a	-- ^a
	SW-HDTMA	612 (773-485) ^b	0.87 ± 0.10^b	0.973
	SAz-1	-- ^a	-- ^a	-- ^a
	SA-HEXADIM	1225 (1276-1175)	1.22 ± 0.02	0.999
	SA-HDTMA	-- ^a	-- ^a	-- ^a
	ALP	26 (34-20)	0.33 ± 0.16	0.687
	ALPcom	17 (21-14)	0.27 ± 0.12	0.709
MCPP-P	SWy-2	-- ^a	-- ^a	-- ^a
	SW-HDTMA	575 (696-475)	0.88 ± 0.09	0.982
	SAz-1	-- ^a	-- ^a	-- ^a
	SA-HEXADIM	1905 (1995-1819)	1.53 ± 0.02	0.999
	SA-HDTMA	-- ^a	-- ^a	-- ^a
	ALP	56 (86-36)	0.74 ± 0.25	0.811
	ALPcom	44 (49-39)	0.41 ± 0.06	0.964

^a no se ajusta a la ecuación de Freundlich por adsorción muy baja o elevada

^b rango de error estándar

Las isotermas de desorción de MCPP y MCPP-P a los adsorbentes seleccionados se exponen en las Figuras IV.37 y IV.38. El comportamiento observado en la desorción para ambos herbicidas fue similar, no encontrándose diferencias importantes entre ambos. Por otra parte, hay que destacar que sólo para los casos de SW-HDTMA y SA-HEXADIM fue posible ajustar las isotermas de desorción a la ecuación de Freundlich (Tabla IV.19), dado que en el resto de casos se produjo una adsorción muy elevada (SA-HDTMA) o muy baja (ALP y ALPcom), lo que da lugar a isotermas de desorción mal definidas (Barriuso et al., 1994).

Según se deriva tanto de las isotermas (Fig. IV.37 y IV.38) como de los coeficientes de histéresis, $H (=N_{f-des}/N_{f-ads})$ (Tabla IV.19), SW-HDTMA mostró

IV. Resultados y Discusión

desorción reversible tanto para MCP-P como para MCP-P-P, mientras que SA-HEXADIM mostró irreversibilidad, con valores de H inferiores a la unidad (Tabla IV.19) para ambos herbicidas. La irreversibilidad en la adsorción observada para SA-HEXADIM apoya la contribución iónica al enlace, tal y como se ha observado para herbicidas aniónicos como MCPA y clopiralida (Celis et al., 1999b; Celis et al., 2012).

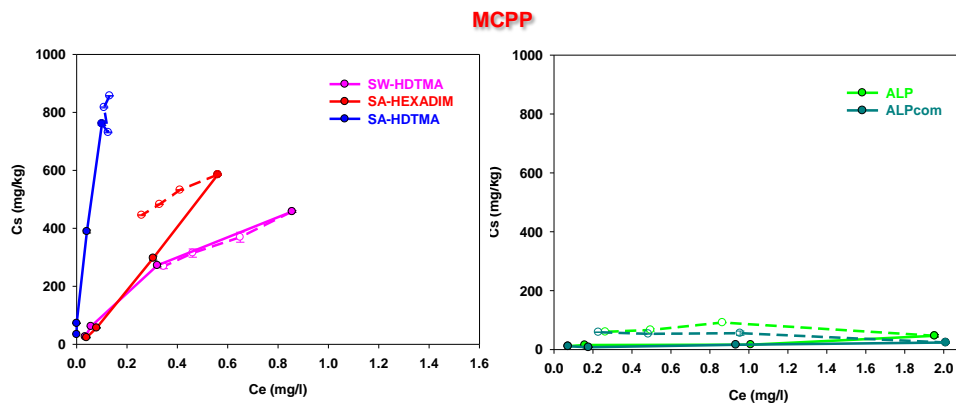


Figura IV.37. Isothermas de adsorción-desorción de MCP-P para los adsorbentes seleccionados: organoarcillas (izquierda), alperujos (derecha). Las líneas continuas corresponden a la adsorción, las líneas discontinuas corresponden a la desorción.

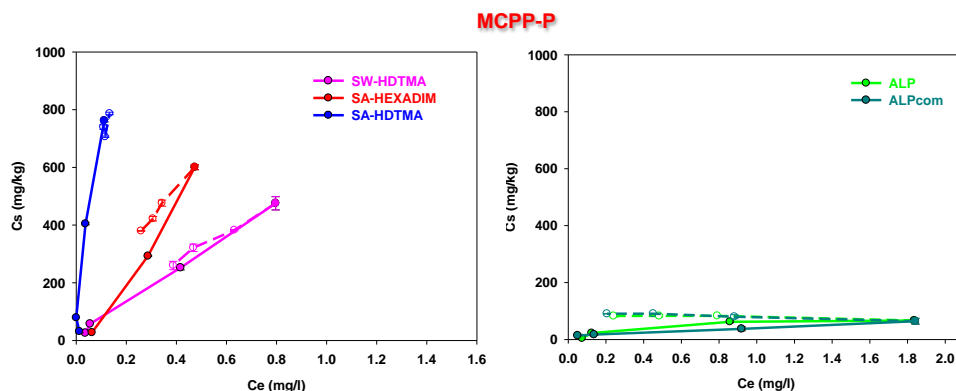


Figura IV.38. Isothermas de adsorción-desorción de MCP-P-P para los adsorbentes seleccionados: organoarcillas (izquierda), alperujos (derecha). Las líneas continuas corresponden a la adsorción, las líneas discontinuas corresponden a la desorción.

Tabla IV.19. Coeficientes de Freundlich para la desorción de MCPP y MCPP-P en los adsorbentes seleccionados.

	Muestra	K_{f-des}	N_{f-des}	R^2	H
MCPP	SW-HDTMA	488 (503-474) ^a	0.57 ± 0.04^a	0.989	0.66
	SA-HEXADIM	724 (737-710)	0.36 ± 0.02	0.995	0.30
MCPP-P	SW-HDTMA	562 (587-538)	0.80 ± 0.06	0.986	0.91
	SA-HEXADIM	1070 (1120-1024)	0.77 ± 0.04	0.995	0.48

^a rango de error estándar

IV.3.2.2. Adsorción a suelos enmendados y sin enmendar

Con el objetivo de incrementar la adsorción de MCPP y MCPP-P en suelos y de comparar la utilidad de los materiales seleccionados para tal fin, se evaluó en este apartado, tal y como se realizó para fluometurón, la enmienda de los 4 suelos empleados en esta memoria a un porcentaje del 1, 2 y 5 % con SW-HDTMA, SA-HEXADIM y SA-HDTMA como enmiendas inorgánicas y ALP y ALPcom como enmiendas orgánicas.

En general, la cantidad de herbicida adsorbida por los suelos sin enmendar fue muy pequeña, < 5% (Figuras IV.39 y IV.40), debido a que MCPP y MCPP-P tienen una gran afinidad por la fase acuosa y a que su carga negativa al pH de los suelos utilizados provoca repulsiones con las cargas negativas de la materia orgánica y de los filosilicatos del suelo (Hamaker y Thompson, 1972). Esto se ha observado para otros herbicidas ácidos, como por ejemplo el 2,4-D, que se adsorben en mucha menor proporción que herbicidas no iónicos y que bases débiles (Hiller et al., 2008). Además, no se observaron diferencias significativas entre MCPP y MCPP-P en la adsorción a los suelos empleados, aunque la escasa adsorción de ambos dificultó ver posibles diferencias. Matallo et al. (1998) obtuvo un resultado similar al observar que tanto MCPP como MCPP-P se adsorbían escasamente y en similar cuantía a doce suelos diferentes.

IV. Resultados y Discusión

Tras la enmienda de los suelos con los distintos adsorbentes se observó que las organoarcillas seleccionadas y los alperujos incrementaron la adsorción de los herbicidas respecto a los suelos sin enmendar.

Según se deriva de las Figuras IV.39 y IV.40, el incremento en la adsorción estuvo supeditado a la capacidad adsorbente de los adsorbentes individuales, a la dosis de enmienda, siendo el efecto particularmente notable cuando el porcentaje de enmienda fue del 5%, y al función del tipo de suelo enmendado. Así, el adsorbente con el que se alcanzaron adsorciones más elevadas fue SA-HDTMA, observándose que en el suelo S1 la adsorción no alcanzó valores tan elevados como en el resto, 56% y 65% para MCP y MCP-P, respectivamente. Por otro lado, ALP aplicado a una dosis del 5% produjo un mayor efecto para S2 y S4, suelos con un contenido en materia orgánica menor que S1 y S3.

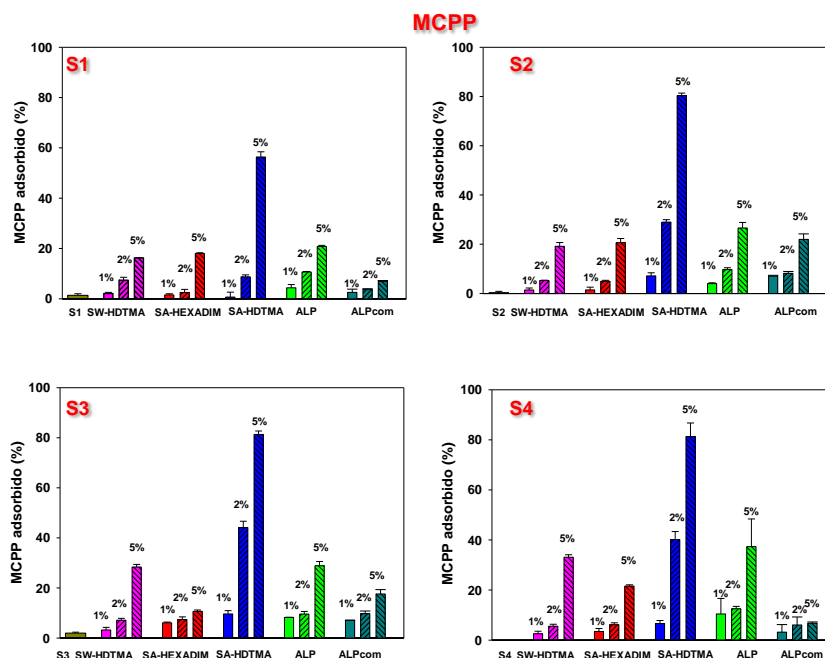


Figura IV.39. Porcentaje de MCP adsorbido en los suelos sin enmendar y enmendados a diferentes porcentajes (1%, 2% y 5%) con SW-HDTMA, SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom, a una concentración inicial de herbicida de 1 mg/l.

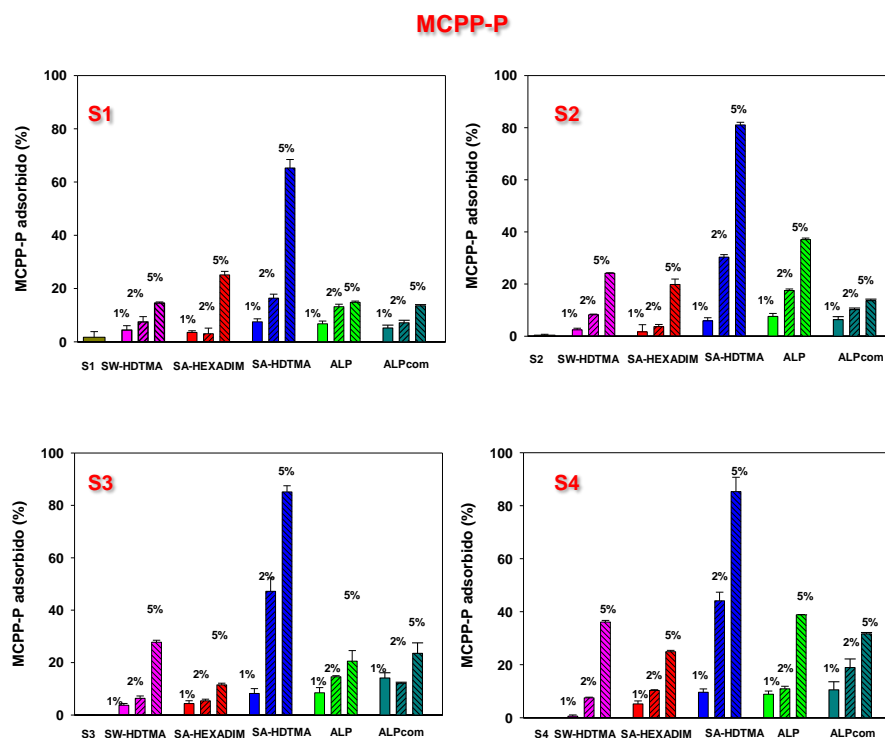


Figura IV.40. Porcentaje de MCPP-P adsorbido en los suelos sin enmendar y enmendados a diferentes porcentajes (1%, 2% y 5%) con SW-HDTMA, SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom, a una concentración inicial de herbicida de 1 mg/l.

A diferencia de lo observado para fluometurón, únicamente la organoarcilla SA-HDTMA fue la que produjo un aumento en la adsorción mucho más pronunciado que los alperujos, tanto para MCPP como para MCPP-P, oscilando entre 2 y 4 veces más, dependiendo del suelo enmendado. Para el resto de organoarcillas (SW-HDTMA y SA-HEXADIM) el incremento en la adsorción de ambos herbicidas fue similar al observado para los alperujos. Matallo et al. (1999) demostraron que suelos enmendados con turba incrementaron la adsorción de MCPP y MCPP-P como consecuencia del incremento de materia orgánica de los suelos y, por tanto, de un aumento en la hidrofobicidad del sistema. Varios autores apuntan que la adsorción de herbicidas fenoxiácidos en suelos transcurre por interacciones entre el grupo carboxílico con las superficies de la materia orgánica y arcilla, estabilizadas por

interacciones hidrofóbicas entre el anillo aromático y la materia orgánica de los suelos, todo influenciado por factores como el pH, tamaño de partícula, fuerza iónica, características de la materia orgánica, etc. (Pignatello y Xing, 1995; Celis et al., 1999b; Haberhauer et al., 2000, 2001; Wachoupe et al., 2002). En este sentido ALP provocó tras la enmienda de los suelos un aumento de la adsorción mayor que ALPcom tanto para MCPP como para MCPP-P, siendo el efecto más pronunciado para los suelos S2 y S4 e influenciado de nuevo por la cantidad y características de la materia orgánica que componen cada alperujo. Oravec et al. (2010) tampoco obtuvieron diferencias significativas en la adsorción de enantiómeros de MCPP en presencia de ácidos húmicos y cenizas, exponiendo que la adsorción de enantiómeros es función de las características de la materia orgánica.

En las Tablas IV.20, IV.21, IV.22 y IV.23 se comparan los coeficientes de distribución (K_d) obtenidos experimentalmente para la adsorción de MCPP y MCPP-P en los suelos, tanto sin enmendar como enmendados a los distintos porcentajes empleados (1, 2 y 5%) con organoarcillas y alperujos, con los coeficientes calculados teóricamente a partir de la Ecuación IV.1 asumiendo un comportamiento independiente del suelo y la enmienda en las mezclas.

Los resultados revelan, al igual que ocurría con fluometurón, que todas las enmiendas fueron menos efectivas en la adsorción de MCPP y MCPP-P en presencia de suelo que en su ausencia ($K_d < K_{d-calc}$). Hace pensar de nuevo, que los sitios de adsorción disponibles en los adsorbentes son bloqueados por los componentes del suelo o compiten por los mismos, reduciendo el rendimiento de los adsorbentes (Celis et al., 1998a). Este efecto fue mucho más pronunciado en el caso de las organoarcillas que en el caso de los alperujos. Tanto es así, que los valores de K_d obtenidos para los suelos enmendados fueron similares para ALP y las organoarcillas SA-HEXADIM y SW-HDTMA a pesar que la capacidad adsorbente de las organoarcillas era mucho mayor (Tablas IV.20, IV.21, IV.22 y IV.23). Al mismo tiempo, se alcanzaron mayores diferencias entre K_d y K_{d-calc} de los suelos enmendados tanto para MCPP como para MCPP-P frente a lo observado para fluometurón, particularmente para el caso de las organoarcillas. Cabe pensar que la existencia de posibles fenómenos de competencia entre iones podría ser la causa

de la disminución en la adsorción de MCPP y MCPP-P en los distintos adsorbentes (Clausen et al., 2001; Stringfellow et al., 2011).

Tabla IV.20. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, $K_{d,r}$ y calculados teóricamente, $K_{d-calc,r}$ para MCPP, en los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos al 1%, 2% y 5%.

MCPP		S1		S2	
Tratamiento		K_d	K_{d-calc}	K_d	K_{d-calc}
		----- l/kg -----		----- l/kg -----	
Sin enmendar		0.0 ± 0.1^a	--	0.0 ± 0.1	--
SW- HDTMA	1%	0.1 ± 0.1	8.2	0.1 ± 0.1	8.2
	2%	0.2 ± 0.1	16.2	0.1 ± 0.1	16.2
	5%	0.4 ± 0.1	39.3	0.5 ± 0.1	39.3
SA- HEXADIM	1%	0.1 ± 0.1	9.8	0.1 ± 0.1	9.8
	2%	0.1 ± 0.1	19.3	0.1 ± 0.1	19.3
	5%	0.4 ± 0.1	46.8	0.5 ± 0.1	46.8
SA- HDTMA	1%	0.1 ± 0.1	106	0.2 ± 0.1	106
	2%	0.2 ± 0.1	209	0.8 ± 0.1	209
	5%	2.5 ± 0.2	507	7.9 ± 0.5	507
ALP	1%	0.1 ± 0.1	0.5	0.1 ± 0.1	0.5
	2%	0.2 ± 0.1	0.9	0.2 ± 0.1	0.9
	5%	0.5 ± 0.1	2.3	0.7 ± 0.1	2.3
ALPcom	1%	0.1 ± 0.1	0.2	0.2 ± 0.1	0.2
	2%	0.1 ± 0.1	0.3	0.2 ± 0.1	0.3
	5%	0.1 ± 0.1	0.8	0.5 ± 0.1	0.8

^a media \pm error estándar

IV. Resultados y Discusión

Tabla IV.21. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para MCP, en los suelos S3 y S4 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos al 1%, 2% y 5%.

MCP		S3		S4	
Tratamiento		K_d	K_{d-calc}	K_d	K_{d-calc}
		----- l/kg -----		----- l/kg -----	
Sin enmendar		0.0 ± 0.1^a	--	0.0 ± 0.1	--
SW-HDTMA	1%	0.1 ± 0.1	8.2	0.1 ± 0.1	8.2
	2%	0.2 ± 0.1	16.2	0.1 ± 0.1	16.2
	5%	0.8 ± 0.1	39.3	1.0 ± 0.1	39.3
SA-HEXADIM	1%	0.2 ± 0.1	9.8	0.0 ± 0.1	9.8
	2%	0.1 ± 0.1	19.3	0.0 ± 0.1	19.3
	5%	0.2 ± 0.1	46.8	0.1 ± 0.1	46.8
SA-HDTMA	1%	0.2 ± 0.1	106	0.2 ± 0.1	106
	2%	1.6 ± 0.1	209	2.6 ± 0.1	209
	5%	8.3 ± 0.1	507	12.9 ± 0.1	507
ALP	1%	0.2 ± 0.1	0.5	0.2 ± 0.1	0.5
	2%	0.2 ± 0.1	0.9	0.3 ± 0.1	0.9
	5%	0.8 ± 0.3	2.3	1.4 ± 0.7	2.3
ALPcom	1%	0.2 ± 0.1	0.2	0.1 ± 0.1	0.2
	2%	0.2 ± 0.1	0.3	0.1 ± 0.1	0.3
	5%	0.4 ± 0.0	0.8	0.1 ± 0.0	0.8

^a media \pm error estándar

Tabla IV.22. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para MCPP-P, en los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos al 1%, 2% y 5%.

MCPP-P		S1		S2	
Tratamiento		K_d	K_{d-calc}	K_d	K_{d-calc}
		----- l/kg -----		----- l/kg -----	
Sin enmendar		0.0 ± 0.1^a	--	0.0 ± 0.1	--
SW- HDTMA	1%	0.1 ± 0.1	7.6	0.1 ± 0.1	7.6
	2%	0.2 ± 0.1	15.1	0.2 ± 0.3	15.1
	5%	0.6 ± 0.1	36.5	0.7 ± 0.2	36.5
SA- HEXADIM	1%	0.1 ± 0.1	10.2	0.1 ± 0.1	10.2
	2%	0.1 ± 0.1	20.1	0.1 ± 0.1	20.1
	5%	0.4 ± 0.1	48.8	0.5 ± 0.1	48.8
SA- HDTMA	1%	0.2 ± 0.1	114	0.1 ± 0.1	114
	2%	0.4 ± 0.5	226	0.9 ± 0.1	226
	5%	3.7 ± 0.5	548	8.3 ± 0.8	548
ALP	1%	0.1 ± 0.1	0.5	0.2 ± 0.1	0.5
	2%	0.3 ± 0.1	1.0	0.4 ± 0.1	1.0
	5%	0.3 ± 0.1	2.4	1.1 ± 0.1	2.4
ALPcom	1%	0.1 ± 0.1	0.2	0.1 ± 0.1	0.2
	2%	0.2 ± 0.1	0.3	0.2 ± 0.1	0.3
	5%	0.3 ± 0.1	0.7	0.3 ± 0.1	0.7

^a media \pm error estándar

IV. Resultados y Discusión

Tabla IV.23. Coeficientes de distribución, K_d (l/kg), obtenidos experimentalmente, K_d , y calculados teóricamente, K_{d-calc} , para MCPP-P, en los suelos S3 y S4 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos al 1%, 2% y 5%.

MCPP-P		S3		S4	
Tratamiento		K_d	K_{d-calc}	K_d	K_{d-calc}
		----- l/kg -----		----- l/kg -----	
Sin enmendar		0.0 ± 0.1^a	--	0.0 ± 0.1	--
SW- HDTMA	1%	0.1 ± 0.1	7.6	0.0 ± 0.0	7.6
	2%	0.1 ± 0.1	15.1	0.2 ± 0.1	15.1
	5%	0.7 ± 0.1	36.5	1.1 ± 0.1	36.5
SA- HEXADIM	1%	0.1 ± 0.1	10.2	0.0 ± 0.0	10.2
	2%	0.1 ± 0.1	20.1	0.0 ± 0.1	20.1
	5%	0.2 ± 0.1	48.8	0.1 ± 0.1	48.8
SA- HDTMA	1%	0.2 ± 0.1	114	0.2 ± 0.0	114
	2%	1.5 ± 0.1	226	1.5 ± 0.1	226
	5%	8.3 ± 0.1	548	12.9 ± 2.8	548
ALP	1%	0.2 ± 0.1	0.5	0.2 ± 0.0	0.5
	2%	0.3 ± 0.1	1.0	0.5 ± 0.1	1.0
	5%	0.5 ± 0.3	2.4	1.4 ± 0.7	2.4
ALPcom	1%	0.3 ± 0.1	0.2	0.3 ± 0.1	0.2
	2%	0.3 ± 0.1	0.3	0.5 ± 0.1	0.3
	5%	0.6 ± 0.1	0.7	0.9 ± 0.1	0.7

^a media \pm error estándar

Sobre la base de los resultados obtenidos para la adsorción de MCPP y MCPP-P en los suelos enmendados, se seleccionaron las organoarcillas SA-HEXAD y SA-HDTMA junto con los dos alperujos, ALP y ALPcom, para los posteriores estudios de persistencia, lixiviación y eficacia biológica de los herbicidas en los suelos S1 y S2, cuyos resultados se presentan en los siguientes apartados. La

organoarcilla SW-HDTMA se descartó al producir un efecto similar al de SA-HEXADIM, presentando el catión HEXADIM el interés añadido de haber sido muy poco utilizado en la literatura científica para la preparación de organoarcillas. Cabe resaltar que también se seleccionó una única dosis de enmienda del 5%, para el estudio de persistencia dado que, a diferencia de fluometurón, las dosis del 1 y 2% resultaron ser poco efectivas para la mayoría de los adsorbentes ensayados a la hora de incrementar la adsorción de MCPP y MCPP-P a los suelos. En el caso de la lixiviación se utilizó la enmienda además del 5%, junto con la del 2% a efectos comparativos con el herbicida fluometurón.

IV.3.2.3. Estudios de persistencia

El estudio de persistencia de MCPP y MCPP-P se llevó a cabo con los suelos S1 y S2 sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos en una proporción del 5%, porcentaje al cual se vio un efecto considerable en la adsorción de los herbicidas en los suelos. En este apartado además, se evalúan las posibles diferencias en la degradación entre enantiómeros, teniendo en cuenta que las diferencias recogidas hasta ahora en la bibliografía en cuanto a degradación enantioselectiva de MCPP se refiere, se han observado como consecuencia de procesos bióticos, a pesar de la gran variedad de mecanismos involucrados en la degradación de este herbicida (Romero et al., 2001; Johnson et al., 2003; Buss et al., 2006; Halladja et al., 2009; Rodríguez-Cruz et al., 2010). Algunos autores han citado que el pH del suelo puede influir en la degradación preferente de enantiómeros, como diclorprop y MCPP, de modo que a $\text{pH} > 7$ la degradación es sobre R(+) preferente al S(-) (Kurt-Karakus et al., 2008). Parece ser que la degradación de MCPP y MCPP-P en suelos está gobernada tanto por las condiciones redox del sistema como por la actividad de distintas poblaciones microbianas (Heron y Christensen, 1992), lo que puede resultar en la degradación preferente de uno de los enantiómeros respecto al otro o en inversión de la degradación (Ludwing et al., 1992; Tett et al., 1994; Müller y Buser, 1997; Zipper et al. 1999; Williams et al., 2003; Kurt-Karakus et al., 2008; Oravec et al., 2010).

IV. Resultados y Discusión

Las curvas de disipación obtenidas en nuestro caso para MCPP y MCPP-P en los suelos S1 y S2 se muestran en la Figura IV.41 y IV.42, respectivamente.

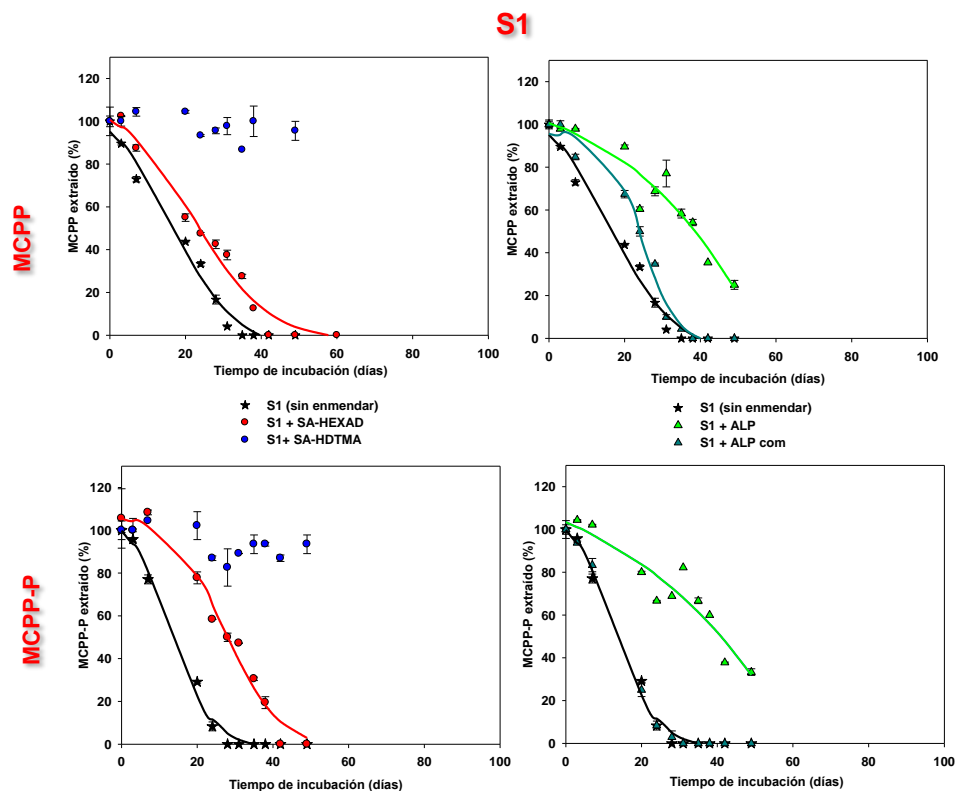


Figura IV.41. Curvas de disipación de MCPP (arriba) y MCPP-P (abajo) en S1 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las líneas corresponden al ajuste sigmoidal de las curvas.

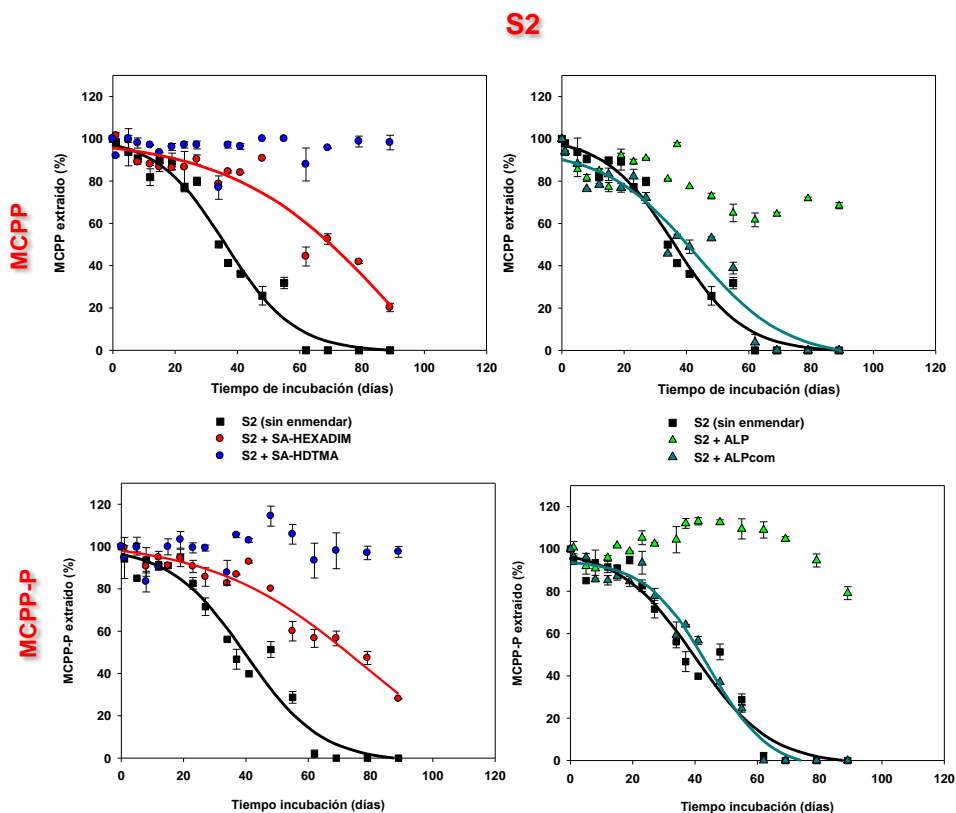


Figura IV.42. Curvas de disipación de MCPP (arriba) y MCPP-P (abajo) en S2 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPcom. Los símbolos corresponden a los datos experimentales, mientras que las líneas corresponden al ajuste sigmoidal de las curvas.

En los suelos sin enmendar y enmendados con algunos de los adsorbentes, las curvas de disipación obtenidas fueron sigmoidales (Fig. IV.41 y IV.42). Estas curvas son típicas de compuestos utilizados como sustrato de crecimiento por los microorganismos del suelo (Kearney et al., 1997) y están de acuerdo con la degradación microbiana propuesta para MCPP y MCPP-P en suelos. En otros casos, los datos de disipación no se ajustaron adecuadamente a una cinética de disipación sigmoidal, principalmente porque las enmiendas inhibieron o retardaron considerablemente la disipación del herbicida y dieron lugar a curvas mal definidas (Fig. IV.41 y IV.42). Para los casos en los que fue posible, los datos de disipación se

ajustaron a una ecuación sigmoideal con cuatro parámetros (Ec. IV.2) y se obtuvieron las constantes del ajuste, así como el tiempo necesario para que la concentración de herbicida se redujera a la mitad, TD_{50} (Tablas IV.24 y IV.25).

Los valores de TD_{50} obtenidos en este trabajo para MCPP y MCPP-P en los suelos sin enmendar concuerdan con los rangos recopilados en la bibliografía, que en condiciones aeróbicas oscilan entre 3 y 50 días dependiendo del tipo de suelo (Smith 1989; Smith y Aubin, 1991; Helweg, 1993; Romero et al., 2001). La degradación de MCPP y MCPP-P en los suelos sin enmendar tuvo lugar más rápidamente en el suelo arcilloso (S1) que en el suelo franco-arenoso (S2). Sobre la base de estos resultados y de los obtenidos para fluometurón, el suelo S1, con mayor contenido en arcilla y materia orgánica, parece ser un suelo con mayor actividad microbiana y poder degradativo que el suelo S2. Por otra parte, MCPP-P (R) se degradó ligeramente antes que MCPP (R+S) en S1, pero no así en S2 (Figura IV.41 y IV.42, Tablas IV.24 y IV.25). Williams et al. (2003) sugirieron la degradación preferente del enantiómero R(+) frente a S(-) en aguas subterráneas y lo atribuyeron a las condiciones anaeróbicas de la zona puesto que en la zona aeróbica del mismo se invirtió el proceso. Por otro lado, Romero et al. (2001) encontraron que, a diferencia de los resultados obtenidos en este trabajo, MCPP se degradaba más lentamente en un suelo arcilloso que MCPP-P, lo que pone de manifiesto que la degradación enantioselectiva de plaguicidas puede diferir dependiendo de las condiciones específicas del suelo (redox, temperatura, contenido en agua, pH, etc...) que repercute directamente en la actividad microbiana, promotor de la degradación de los enantiómeros (Buss et al., 2006).

En los suelos enmendados, por lo general, se mantuvo la misma tendencia en cuanto al tipo de suelo, es decir, en S2 la persistencia de MCPP y MCPP-P fue mayor que en S1, si bien las enmiendas produjeron diferentes efectos en las curvas de disipación.

En el caso de las organoarcillas, SA-HDTMA inhibió casi totalmente la degradación del herbicida en ambos suelos, mientras que SA-HEXADIM también retrasó la degradación aunque de forma mucho menos acusada. Estos resultados podrían relacionarse con el aumento en la adsorción de MCPP y MCPP-P que se

produce tras la adición de las organoarcillas a los suelos, lo que podría haber protegido al herbicida de la degradación, más en el caso de SA-HDTMA que en el de SA-HEXADIM. El diferente comportamiento observado respecto al de fluometurón, para el que la organoarcilla SW-SPERM no retrasó la disipación del herbicida en los suelos S1 y S2 a pesar de aumentar considerablemente su adsorción (Fig. IV.20), podría estar reflejando los diferentes mecanismos de adsorción de los herbicidas a las organoarcillas. Una mayor resistencia a la desorción de MCPP y MCPP-P de SA-HEXADIM y SA-HDTMA podría haber protegido al herbicida de la degradación frente a una adsorción mucho más reversible de fluometurón a SW-SPERM. A priori, los resultados no evidenciaron la degradación preferente del enantiómero puro respecto a la mezcla racémica o viceversa (Fig. IV.41 y IV.42, Tablas IV.24 y IV.25).

Tabla IV.24. Constantes del ajuste de los datos de disipación de MCPP y MCPP-P en S1 a una cinética de tipo sigmoideal.

S1							
Tratamiento	C ₀	a	t ₀	b	R ²	TD ₅₀	
Sin enmendar	-2.4 ± 2.6 ^a	103.2 ± 11.1	17.6 ± 2.3	-2.4 ± 2.6	0.984	19	
MCPP	SA- HEXADIM	-3.4 ± 3.8	115.2 ± 13.4	22.2 ± 2.6	-9.9 ± 2.1	0.982	29
	SA- HDTMA	-- ^b	--	--	--	--	>50
	ALP	-- ^b	--	--	--	--	40 ^c
	ALPcom	0.9 ± 3.3	99.4 ± 6.2	24.5 ± 0.9	-4.6 ± 0.9	0.986	28
	Sin enmendar	-2.4 ± 1.4 ^a	113.0 ± 10.2	12.8 ± 1.4	-5.7 ± 0.7	0.994	17
MCPP-P	SA- HEXADIM	-2.5 ± 3.3	110.5 ± 6.4	27.4 ± 1.2	-7.3 ± 1.1	0.986	32
	SA- HDTMA	-- ^b	--	--	--	--	>50
	ALP	-- ^b	--	--	--	--	40 ^c
	ALPcom	-1.3 ± 1.3	110.6 ± 8.2	12.8 ± 1.4	-5.5 ± 0.7	0.994	17

^a media ± error estándar

^b no se ajusta a la ecuación

^c obtenido gráficamente

IV. Resultados y Discusión

Tabla IV.25. Constantes del ajuste de los datos de disipación de MCPP y MCPP-P en S2 a una cinética de tipo sigmoidal.

S2						
Tratamiento	C ₀	a	t ₀	b	R ²	TD ₅₀
Sin enmendar	-2.2 ± 5.4 ^a	103.8 ± 10.2	36.4 ± 2.3	-11.1 ± 2.6	0.972	44
MCPP	SA- HEXADIM	-- ^b	--	--	--	69 ^c
	SA- HDTMA	-- ^b	--	--	--	>90
	ALP	-- ^b	--	--	--	>90
	ALPcom	-3.8 ± 4.8	98.8 ± 10.8	42.9 ± 3.5	-14.5 ± 3.6	0.957
Sin enmendar	-2.0 ± 3.4	101.9 ± 7.7	39.9 ± 2.4	-12.1 ± 2.3	0.973	48
MCPP-P	SA- HEXADIM	-- ^b	--	--	--	72 ^c
	SA- HDTMA	-- ^b	--	--	--	>90
	ALP	-- ^b	--	--	--	>90
	ALPcom	-4.8 ± 4.7	99.6 ± 6.6	44.1 ± 1.7	-9.9 ± 1.7	0.981

^a media ± error estándar

^b no se ajusta a la ecuación

^c obtenido gráficamente

En el caso de los alperujos, ALP aumentó la persistencia de los herbicidas respecto a los suelos sin enmendar (Fig. IV.41 y IV.42), incluso en mayor proporción que SA-HEXADIM a pesar de que los suelos enmendados con ambos adsorbentes presentaron una adsorción similar (Fig. IV.41). Romero et al. (2001) obtuvieron un descenso en la disipación de MCPP tras la enmienda de tres suelos con turba al 10%, que fue atribuido a un incremento en la adsorción lo que redujo la disponibilidad de las moléculas de herbicida para ser degradadas. En el caso de ALP, además del efecto protector de la adsorción frente a la degradación, se han descrito otros mecanismos por los que la materia orgánica biodegradable presente en el residuo orgánico pudiera ser utilizada como sustrato de crecimiento por los microorganismos del suelo o por los que ciertos componentes del alperujo fresco

podieran resultar tóxicos para dichos microorganismos, disminuyendo en ambos casos la degradación del herbicida (Albarrán et al., 2004). Este efecto observado para MCPP y MCPP-P fue similar al encontrado para fluometurón en los suelos enmendados con ALP a altas dosis. A diferencia del alperujo fresco (ALP), el efecto del alperujo compostado (ALPcom) en las curvas de disipación de MCPP y MCPP-P fue muy pequeño. Probablemente esto se debió a que este alperujo tenía poca capacidad adsorbente para MCPP y MCPP-P, como consecuencia de su menor contenido en materia orgánica y de que presenta un valor de pH más elevado (8.6) que ALP (5.2), al mismo tiempo que carece de moléculas de bajo peso molecular que son las más propensas a ser utilizadas por los microorganismos como sustrato de crecimiento y/o producir efectos tóxicos para éstos, inhibiendo la degradación. Finalmente, hay que resaltar que para S1 enmendado con ALPcom se apreció un cierto retraso en la degradación de MCPP que no se observó para MCPP-P (Fig. IV.40 y Tabla IV.24). Esto refleja que la adición de materia orgánica exógena podría haber incidido en la actividad microbiológica retrasando la degradación del enantiómero S(-). Por ejemplo, Romero et al. (2001) obtuvieron que la adición de turba al 10% a diferentes tipos de suelo redujo la persistencia del enantiómero R(+) frente al S(-). En S2 se observó con ALP el efecto inverso, ya que se retrasó en mayor medida la degradación del enantiómero R(+) (MCPP-P) que la mezcla racémica (MCPP).

En resumen, los datos de disipación de los herbicidas MCPP y MCPP-P en los suelos S1 y S2, sin enmendar y enmendados con organoarcillas y alperujos, ponen de manifiesto una degradación más rápida de los herbicidas en el suelo S1 que en el S2 y un aumento de la persistencia del herbicida por la adición de las enmiendas a ambos suelos siguiendo el orden:

$$\text{Suelos sin enmendar} \approx \text{ALPcom} < \text{SA-HEXAD} < \text{ALP} \leq \text{SA-HDTMA}$$

Este orden es congruente con el aumento en la adsorción producido por las diferentes enmiendas en los suelos estudiados, pudiendo existir además una contribución de factores adicionales sobre los microorganismos del suelo y/o su

enantioselectividad tras la adición de la materia orgánica exógena en el caso del alperujo.

IV.3.2.4. Estudios de lixiviación

Tras los estudios de persistencia, se evaluó la influencia de la adición de las enmiendas a S1 y S2 en la movilidad de ambos herbicidas a través del perfil del suelo, para lo que se llevaron a cabo experimentos de lixiviación en columnas de suelo empaquetadas a mano. La enmienda con las organoarcillas (SA-HEXADIM y SA-HDTMA) se realizó, como en el caso de fluometurón, para los primeros 1.25 cm de suelo a un porcentaje del 5%. Con los alperujos, por el contrario, se enmendó toda la columna al 2 y 5% cuando se trató con ALP y sólo al 5% para ALPcom. La dosis de aplicación utilizada de MCP-P y MCP-P-P fue 2 kg/ha y los perfiles de elución de los herbicidas se obtuvieron añadiendo diariamente a las columnas 15 ml de agua destilada y analizando los lixiviados por HPLC para determinar las concentraciones de MCP-P y MCP-P-P en los mismos. Las curvas de lixiviación obtenidas para S1 se recogen en las Figuras IV.43 y IV.44, para MCP-P y MCP-P-P, respectivamente, y para S2 en las Figuras IV.45 y IV.46.

La característica más destacable de las curvas de elución relativas de MCP-P y MCP-P-P en los suelos S1 (Fig. IV.43 y IV.44) y S2 (Fig. IV.45 y IV.46) es la aparición de la máxima concentración de herbicida en los lixiviados tras añadir una cantidad de agua próxima al volumen de poros de la columna ($VP_{max} \approx 1$, Tablas IV.26 y IV.27). Este hecho es característico de compuestos muy escasamente retenidos por la columna de suelo y que, por tanto, se mueven muy rápidamente a través de la misma, como es el caso de los compuestos aniónicos (Carrizosa et al., 2003; Hermosín et al., 2006). Además, al igual que se observó con fluometurón, las concentraciones máximas de MCP-P y MCP-P-P en los lixiviados del suelo S1 (~ 2 mg/l) fueron considerablemente menores que para el suelo S2 (~ 4 mg/l), lo que en este caso se puede atribuir fundamentalmente a la menor persistencia de MCP-P y MCP-P-P en el suelo S1, que, como ponen de manifiesto las curvas acumuladas, produjo una reducción de las cantidades lixiviadas, de un 90% de la cantidad

aplicada en el suelo S2 (Fig. IV.45 y IV.46) a un 50% en el suelo S1 (Fig. IV.43 y IV.44).

En los suelos enmendados, los patrones de lixiviación de MCPP y MCPP-P presentaron diferencias en cuanto al tipo de suelo y enmienda aplicada. En los dos suelos, las organoarcillas no retrasaron significativamente la lixiviación del herbicida aunque sí redujeron las concentraciones de herbicida en los lixiviados y la cantidad total lixiviada, sobre todo en el caso de SA-HDTMA. El hecho de que las organoarcillas no retrasaran significativamente la lixiviación del herbicida puede relacionarse con la pérdida del poder adsorbente de las organoarcillas en presencia de suelos observado en los experimentos de adsorción, que incluso parece acentuarse en condiciones de lixiviación en columnas (Tabla IV.28). No obstante, las organoarcillas sí redujeron considerablemente la cantidad total de herbicida lixiviado, bien por una adsorción fuerte a la organoarcilla bien por degradación durante su paso por la columna de suelo. Estas dos últimas fracciones pueden relacionarse respectivamente, con las cantidades extraídas de la columna y no recuperadas, que aparecen en la Tabla IV.26 y IV.27, para S1 y S2, respectivamente. La adsorción fuerte parece predominar en S2 mientras que la degradación parece tener mayor incidencia en el suelo S1 (Tablas IV.26 y IV.27).

En cuanto a los alperujos, la enmienda de los suelos tanto al 2% como al 5% con ALP, se tradujo en un aumento de las concentraciones máximas tanto de MCPP (Fig. IV.43 y IV.45) como de MCPP-P (Fig. IV.44 y IV.46), respecto a los suelos sin enmendar (Tabla IV.26 y IV.27) mientras que ALPcom dio lugar a un descenso de las concentraciones máximas de los herbicidas. Por otra parte, la adición de los alperujos retrasó la aparición de las concentraciones máximas, obteniéndose valores de $VP_{\text{máx}}$ ligeramente mayores ($VP_{\text{máx}} \sim 1.3$ frente a $VP_{\text{máx}} \sim 1$) para todos los casos (Tabla IV.26 y IV.27). Este hecho ya fue descrito por Matallo et al. (1999), quienes tras enmendar un suelo calcáreo con turba, observaron un retraso en la lixiviación de MCPP que atribuyeron a un incremento del contenido en M.O. por adición de la enmienda orgánica. Similar efecto observaron Cabrera et al. (2008, 2011) para la lixiviación de MCPA tras la enmienda con alperujo, atribuyendo

el retraso en la lixiviación al aumento de la adsorción por el incremento de la materia orgánica.

El aumento de persistencia observado en el apartado anterior para ALP puede ser la causa por la cual, al final del experimento, se incrementara la cantidad total lixiviada, tanto de MCPP como de MCPP-P, en el suelo S1 por la adición de ALP. En el suelo S2, no se llegó a observar este mismo efecto debido a la mayor persistencia del herbicida en este suelo en el que ya lixivió casi la totalidad del herbicida aplicado al suelo sin enmendar (Fig. IV.45 y IV.46).

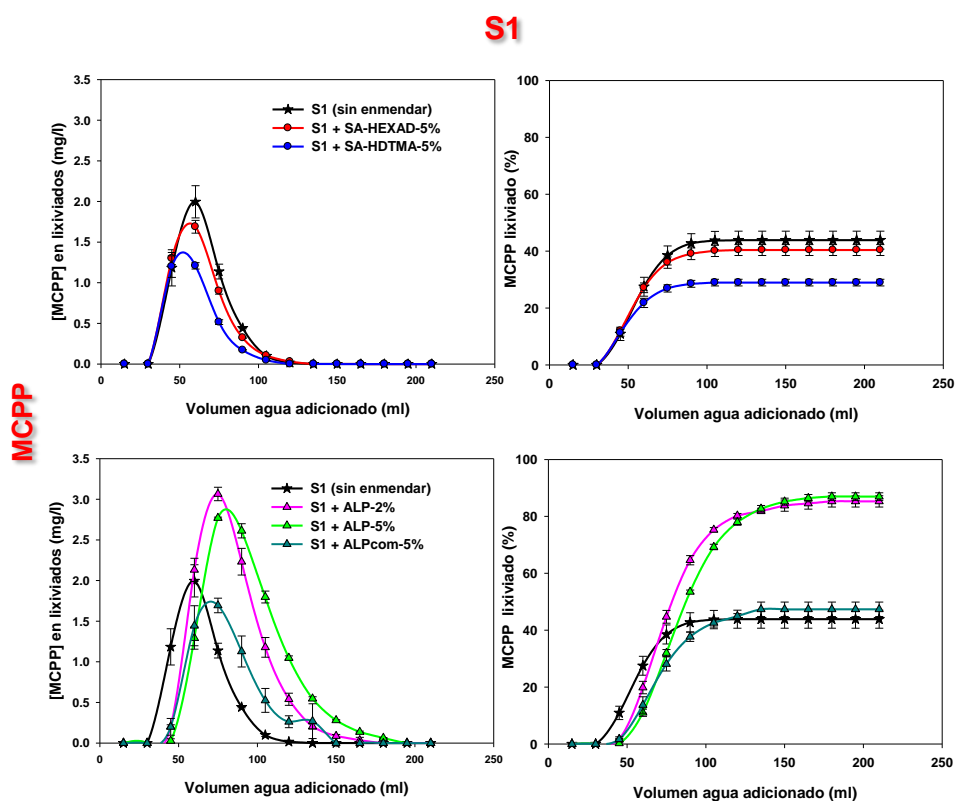


Figura IV.43. Curvas de elución relativas y acumuladas para MCPP aplicado a las columnas de suelo S1 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM y SA-HDTMA (arriba), al 2% y 5% con ALP y al 5% con ALPcom (abajo).

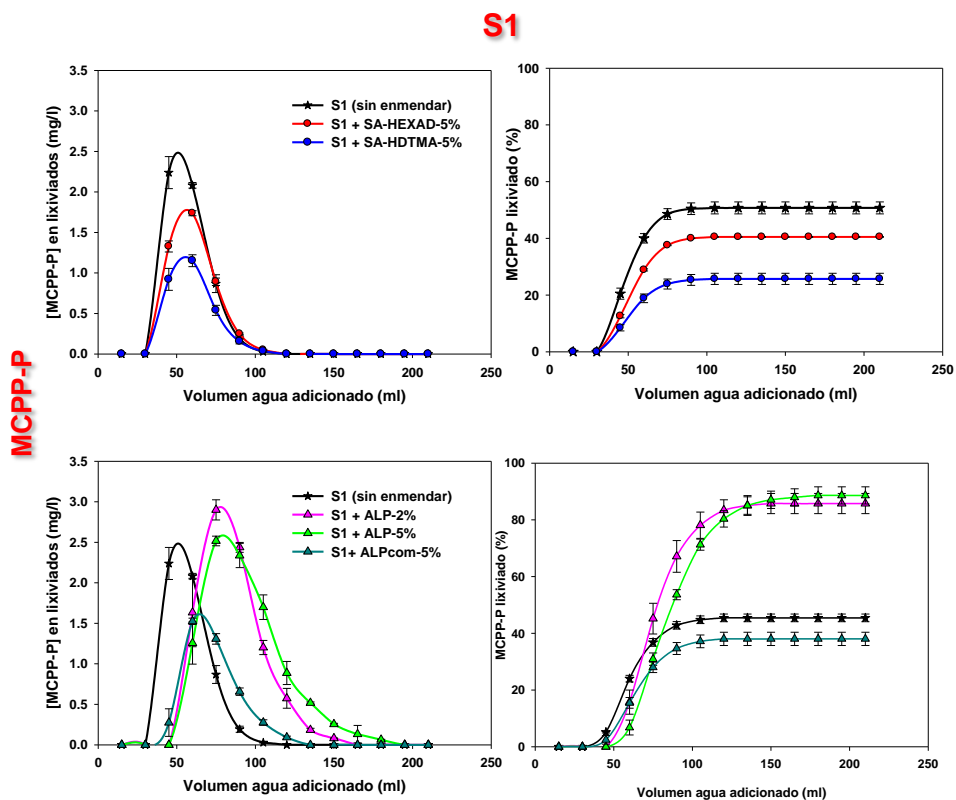


Figura IV.44. Curvas de elución relativas y acumuladas para MCPP-P aplicado a las columnas de suelo S1 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM y SA-HDTMA (arriba), al 2% y 5% con ALP y al 5% con ALPcom (abajo).

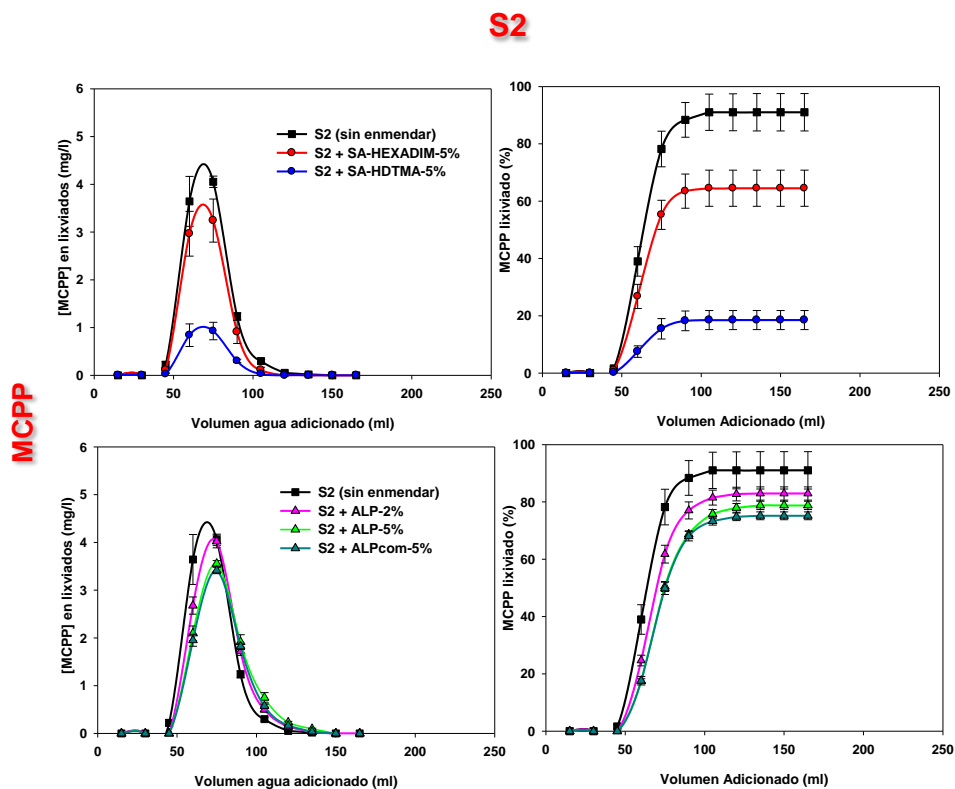


Figura IV.45. Curvas de elución relativas y acumuladas para MCPP aplicado a las columnas de suelo S2 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM y SA-HDTMA (arriba), al 2% y 5% con ALP y al 5% con ALPcom (abajo).

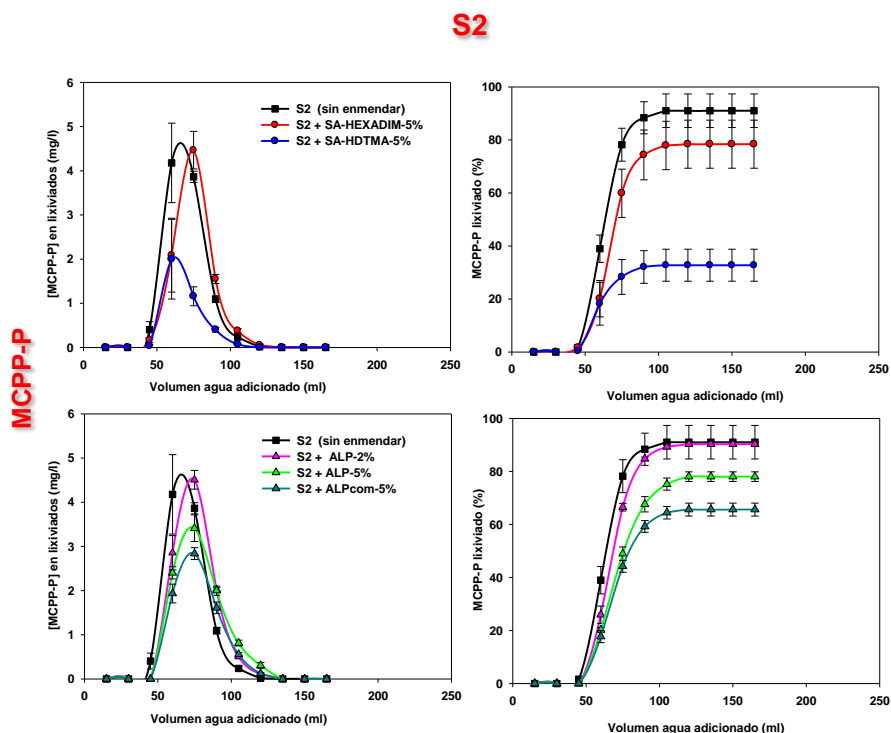


Figura IV.46. Curvas de elución relativas y acumuladas para MCP-P aplicado a las columnas de suelo S2 sin enmendar y enmendado al 5% con SA-HEXADIM y SA-HDTMA (arriba), al 2% y 5% con ALP y al 5% con ALPcom (abajo).

En general, todas las enmiendas dieron lugar a concentraciones mayores de MCP-P y MCP-P cuando se aplicaron a S2 respecto a S1, reflejando el hecho de que S1 resultara ser un suelo más degradativo que S2. En el suelo S2 enmendado con SA-HDTMA y SA-HEXADIM, la mayor parte del herbicida no lixiviado se extrajo de los cinco primeros centímetros de la columna de suelo al final del experimento, manifestando un elevado poder inmovilizante de las organoarcillas, particularmente en dicho suelo. Por otro lado, el hecho de que no se encontraran residuos de MCP-P y MCP-P en las extracciones de las columnas al final del experimento de lixiviación en S1 ni S2 para suelos enmendados con ALP y ALPcom (Tabla IV.26 y IV.27) puede deberse bien a la degradación de los herbicidas en el suelo o bien a formación de residuos no extractables a las partículas del suelo o de alperujo. No

IV. Resultados y Discusión

obstante, hay que tener en cuenta que en los suelos enmendados con ALP, la mayor parte de MCP-P y MCP-P-P se recuperó en los lixiviados (Tabla IV.26 y IV.27).

Tabla IV.26. Porcentaje de MCP-P y MCP-P-P lixiviado, extraído de las columnas y no recuperado durante el experimento de lixiviación con el suelo S1. Concentración máxima de herbicida en los lixiviados y volumen de poro al que apareció dicha concentración máxima ($VP_{máx}$).

S1		Lixiviado	Extraído	No recuperado	[] _{máx}	VP _{máx}	
Tratamiento	%	-----	(%) -----	-----	(mg/l)		
MCP-P	Sin enmendar	5	44 ± 3 ^a	< 1	56	1.99 ± 0.19	1.0
	SA-HEXADIM	5	40 ± 2	10±2	50	1.69 ± 0.08	1.0
	SA-HDTMA	5	29 ± 1	16±1	55	1.20 ± 0.04	1.0
	ALP	2	85 ± 2	< 1	15	3.06 ± 0.08	1.2
		5	87 ± 6	< 1	13	2.77 ± 0.01	1.2
	ALPcom	5	47 ± 3	< 1	53	1.69 ± 0.09	1.2
MCP-P-P	Sin enmendar	5	51 ± 2	< 1	49	2.24 ± 0.20	0.7
	SA-HEXADIM	5	41 ± 1	9±1	59	1.74 ± 0.03	1.0
	SA-HDTMA	5	26 ± 2	17±1	57	1.15 ± 0.07	1.0
	ALP	2	64 ± 4	< 1	36	2.90 ± 0.25	1.2
		5	89 ± 3	< 1	11	2.51 ± 0.06	1.2
	ALPcom	5	38 ± 2	< 1	62	1.52 ± 0.04	1.0

^a media ± error estándar

Tabla IV.27. Porcentaje de MCPP y MCPP-P lixiviado, extraído de las columnas y no recuperado durante el experimento de lixiviación con el suelo S2. Concentración máxima de herbicida en los lixiviados y volumen de poro al que apareció dicha concentración máxima ($VP_{m\acute{a}x}$).

	S2	%	Lixiviado	Extraído	No recuperado	[] _{máx}	VP _{máx}
	Tratamiento		-----	(%) -----	-----	(mg/l)	
MCPP	Sin enmendar	5	91 ± 7 ^a	< 1	9	4.05 ± 0.12	1.3
	SA-HEXADIM	5	65 ± 6	15 ± 1	20	3.24 ± 0.45	1.3
	SA-HDTMA	5	18 ± 3	60 ± 1	22	0.93 ± 0.18	1.3
	ALP	2	83 ± 2	< 1	17	4.01 ± 0.13	1.3
		5	79 ± 1	< 1	21	3.55 ± 0.07	1.3
	ALPcom	5	75 ± 1	< 1	25	3.41 ± 0.07	1.3
MCPP-P	Sin enmendar	5	91 ± 6	< 1	9	4.18 ± 0.90	1.1
	SA-HEXADIM	5	79 ± 9	9 ± 1	9	4.46 ± 0.42	1.3
	SA-HDTMA	5	33 ± 6	40 ± 2	27	1.15 ± 0.20	1.1
	ALP	2	90 ± 1	< 1	10	4.51 ± 0.20	1.3
		5	78 ± 2	< 1	22	3.40 ± 0.30	1.3
	ALPcom	5	66 ± 3	< 1	34	2.40 ± 0.13	1.3

^a media ± error estándar

En una tentativa de describir el movimiento de MCPP y MCPP-P en las columnas de suelo, se determinaron los factores de retardo (FR) derivados de la posición de los picos a la que aparecen los máximos de concentración de herbicida en las curvas de lixiviación de las Figuras IV.43, IV.44, IV.45 y IV.46 y se recogen en la Tabla IV.28. También se dan los factores teóricos FR_{teor-1} y FR_{teor-2} , calculados a través de la Ecuación I.9, bien a partir de los coeficientes de distribución individuales de cada adsorbente (Tabla IV.17) o de los coeficientes de distribución obtenidos para los suelos enmendados (Tablas IV.20 y IV.22). Los FR_{obs} o $VP_{m\acute{a}x}$ para ambos suelos sin enmendar fueron iguales que los teóricos, de lo que se infiere la

linealidad, reversibilidad y equilibrio en el proceso, premisas para la aplicación de la ecuación.

Para el caso de las organoarcillas, los factores de retardo teóricos sobreestimaron el retraso de la lixiviación de los herbicidas (Tabla IV.28), cumpliéndose que:

$$FR_{obs} < FR_{teor-2} \ll FR_{teor-1}$$

Con los valores de FR_{obs} obtenidos cabe pensar de nuevo en la existencia de fenómenos de competencia que hacen disminuir la eficiencia de los adsorbentes en presencia de los suelos. No obstante, también hay que tener en cuenta que las condiciones experimentales a través de las cuales se obtienen los valores de los coeficientes de distribución difieren de las condiciones del experimento de lixiviación (condiciones dinámicas frente a estáticas, diferente relación sólido:disolución, etc.) y que las condiciones de linealidad, equilibrio y reversibilidad podrían no haberse cumplido durante el experimento de lixiviación. Por ejemplo, el hecho de que al finalizar el experimento de lixiviación, una parte importante de los herbicidas se extrajeran de los 5 primeros centímetros de las columnas enmendadas con organoarcillas apunta a una cierta adsorción irreversible. Es probable que una fracción del herbicida aplicado atravesara la barrera de organoarcilla sin sufrir retraso de la lixiviación y que la fracción adsorbida presentara una gran resistencia a la desorción, permaneciendo inmovilizada en los primeros centímetros de la columna.

Woodman et al. (2011) y Stringfellow et al. (2011) han apuntado que las discrepancias entre los factores de retardo experimentales y teóricos para MCPP en experimentos de lixiviación con diferentes materiales arcillosos como barreras inmovilizantes, pueden ser debidas a las condiciones experimentales, puesto que los K_d se obtienen a diferentes relaciones sólido/disolución a las empleadas en el experimento en columnas. Estos autores expusieron, además, una sobreestimación del retardo del herbicida teniendo en cuenta los valores de K_d , obtenidos a partir de

las experiencias de adsorción, resultado similar al obtenido por Matallo et al. (1999) quienes también destacaron las diferencias experimentales entre experimentos de adsorción y lixiviación.

Tabla IV.28. Factores de retardo, observados (FR_{obs}), teóricos calculados a partir de los valores de K_d de los adsorbentes individuales (FR_{teor-1}), y teóricos calculados a partir de los valores de K_d de los suelos enmendados (FR_{teor-2}), para la lixiviación de MCPP y MCPP-P en los suelos S1 y S2 enmendados con SA-HEXADIM, SA-HDTMA, ALP y ALPc.

			S1			S2		
			FR_{obs}	FR_{teor-1}	FR_{teor-2}	FR_{obs}	FR_{teor-1}	FR_{teor-2}
MCPP	Sin enmendar		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	SA-HEXADIM	5	1.0	8.8	1.1	1.3	9.7	1.4
	SA-HDTMA	5	1.0	85.6	1.4	1.3	94.5	2.7
	ALP	2	1.2	3.3	1.5	1.3	3.8	1.6
		5	1.2	6.7	2.3	1.3	7.6	3.1
	ALPcom	5	1.2	3.1	1.3	1.3	3.3	2.5
MCPP-P	Sin enmendar		0.7	1.0	1.0	1.1	1.1	1.0
	SA-HEXADIM	5	1.0	9.1	1.1	1.3	10.0	1.4
	SA-HDTMA	5	1.0	92.3	1.6	1.3	101.9	2.8
	ALP	2	1.2	3.5	1.8	1.3	3.7	2.1
		5	1.2	7.1	1.8	1.3	7.8	4.2
	ALPcom	5	1.0	2.5	1.8	1.3	2.7	1.9

Dado que diferentes autores han señalado la importancia de los cambios en la porosidad y contenido de materia orgánica disuelta en los perfiles de lixiviación de compuestos orgánicos en suelos tratados con enmiendas orgánicas, el estudio de lixiviación se completó con medidas de porosimetría de mercurio, para estudiar la

posible modificación de la porosidad del suelo por la adición de los alperujos, y medidas del carbono orgánico disuelto en los lixiviados. A título de ejemplo, la Fig. IV.47 muestra las distribuciones de tamaño de poro del suelo S1 sin enmendar y enmendado con ALP y ALPcom y la Fig. IV.48 muestra los perfiles de lixiviación del carbono orgánico disuelto en las mismas.

El volumen de poros aumentó en S1 tras la adición de la enmienda entre un 20 y un 26 %, (Fig. IV.47) debido fundamentalmente a un aumento en el volumen de poros de tamaño relativamente elevado ($> 10 \mu\text{m}$). Este resultado es similar al observado por Albarrán et al. (2004) quienes encontraron, como en nuestro caso, un aumento del volumen de poros de mayor tamaño ($\sim 10 \mu\text{m}$) tras la enmienda de un suelo franco-arenoso con un residuo de almazara fresco. Esto pudo haber influido, junto con la adsorción y los procesos degradativos, en el retraso en la lixiviación de los herbicidas en los suelos enmendados con alperujo, ya que, como se ha observado previamente, una mayor porosidad puede incrementar el tiempo de residencia del compuesto en cuestión a lo largo de la columna favoreciendo los procesos degradativos y de adsorción (Cox et al., 1997b; Celis et al., 2005).

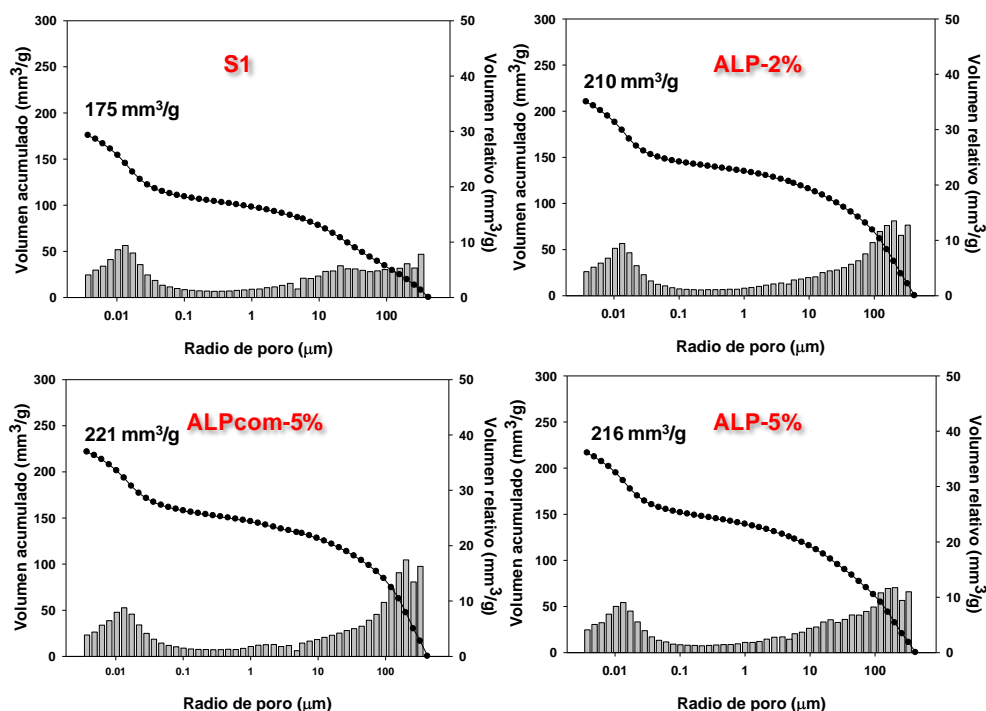


Figura IV.47. Curvas de distribución de tamaño de poro relativas y acumulativas obtenidas por intrusión de mercurio en S1 sin enmendar y enmendado con ALP al 2 y 5% y con ALPcom al 5%.

A la luz de los resultados expuestos en la Fig. IV.48, el contenido en materia orgánica soluble fue muy superior para el suelo S2 enmendados tanto al 2% y al 5% con ALP que para S2 sin enmendar. Este hecho podría haber contribuido a reducir la retención del herbicida en los suelos enmendados con alperujo frente a los valores esperados (Tabla IV.28), puesto que la materia orgánica soluble puede facilitar el transporte de herbicidas por formación de complejos solubles y/o compitiendo con el herbicida por los sitios de adsorción en las partículas de suelo (Celis et al., 1998a, 2006). En particular, este tipo de interacciones ha sido propuesto previamente por varios autores para herbicidas fenoxiácidos y otros compuestos aniónicos (Matallo et al., 1999; Cox et al., 2001; Cabrera et al., 2011).

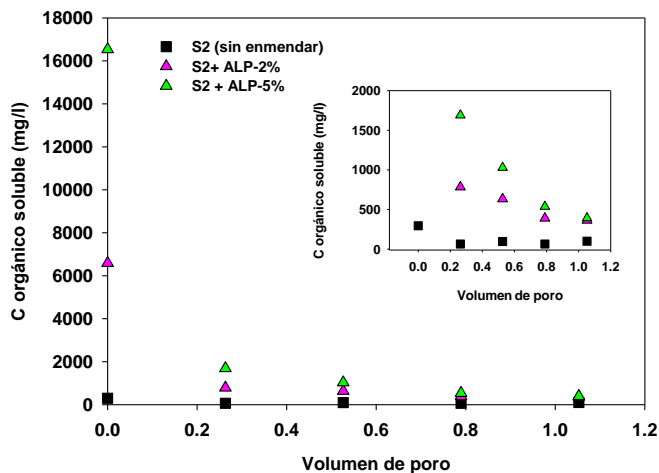


Figura IV.48. Concentración de C orgánico soluble en los lixiviados de las columnas de suelo S2 sin enmendar y enmendado con ALP al 2% y 5%.

Una conclusión de los estudios de lixiviación presentados en este apartado es que a pesar de mostrar mayor poder adsorbente que los alperujos, las organoarcillas no retrasaron significativamente la lixiviación de MCP y MCP-P respecto al suelo sin enmendar, como consecuencia de la reducción del poder adsorbente de las mismas en presencia del suelo. No obstante, la adsorción de MCP y MCP-P a las organoarcillas resultó tener un cierto carácter irreversible que inmovilizó a parte del herbicida en los primeros centímetros del suelo. Hay que tener en cuenta, además, las diferentes condiciones en las que se realizó la enmienda para las organoarcillas y los alperujos, de forma que el mayor retraso producido en la lixiviación por parte de ALP y ALPcom pudo verse favorecido por realizar la enmienda en toda la columna frente a sólo los primeros 1.25 cm de suelo que fueron los tratados con organoarcilla. Por otra parte, comparando los patrones de lixiviación obtenidos para MCP y MCP-P, no hubo diferencias apreciables entre ambos tal y como se había apreciado con la adsorción. Por último, el efecto de alperujo en la lixiviación pareció tener más incidencia en MCP y MCP-P que en el caso de fluometurón, para el que las organoarcillas fueron mucho más efectivas provocando un gran retraso de su lixiviación a través de las columnas de suelo.

IV.3.2.5. Bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación: Eficacia biológica

Los posibles beneficios de la adición de organoarcillas y alperujo al suelo en cuanto a la eficacia biológica del herbicida se evaluaron a través de un bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación, similar al llevado a cabo con fluometurón. En este caso se empleó como herbicida MCPP, ya que tanto éste como MCPP-P mostraron características similares de comportamiento y, como suelo, S2 por ser un suelo típico mediterráneo, modelo de escenario de mayor riesgo de lixiviación por sus características texturales y bajos contenidos en arcilla y materia orgánica.

El experimento consistió en aplicar una dosis de MCPP de 0.2 kg/ha (dosis a la cual previamente se había comprobado que el herbicida era efectivo) a macetas de suelo S2, sin enmendar y enmendado, a las que inmediatamente después se añadieron 200 ml de agua, equivalente a 40 l/m². La enmienda de las macetas se realizó con la organoarcilla SA-HDTMA y con ALP al 5% para los primeros 1.25 cm, según se describe en el apartado III.2.4.1.4.2. Las macetas se dejaron drenar 24 h para analizar el agua lixiviada y determinar su contenido de MCPP y a continuación se sembraron 15 semillas de berro (*Lepidium sativum*) para determinar la eficacia biológica del herbicida durante las dos semanas siguientes.

El porcentaje de herbicida que lixivió de las macetas sin enmendar y enmendadas con ALP fue similar, $84 \pm 9\%$ y $83 \pm 8\%$ del total aplicado, respectivamente, mientras que para las macetas tratadas con SA-HDTMA sólo lixivió un $40 \pm 10\%$ del MCPP aplicado. Los pesos herbáceos obtenidos para los distintos tratamientos y que se muestran en la Fig. IV.49 claramente demuestran que la mayor cantidad de herbicida retenida en las macetas enmendadas con SA-HDTMA fue capaz de controlar eficazmente el crecimiento de las plantas de berro, en comparación con la pérdida total de eficacia biológica observada en las macetas sin enmendar y parcial en las macetas enmendadas con ALP. La Fig. IV.50 muestra el estado de las macetas sometidas a los diferentes tratamientos al finalizar el experimento, donde claramente en las macetas enmendadas con SA-HDTMA,

IV. Resultados y Discusión

MCPP mantuvo su actividad al no perderse por lixiviación como ocurrió en el caso del suelo sin enmendar o enmendado con alperujo (Fig. IV.50).

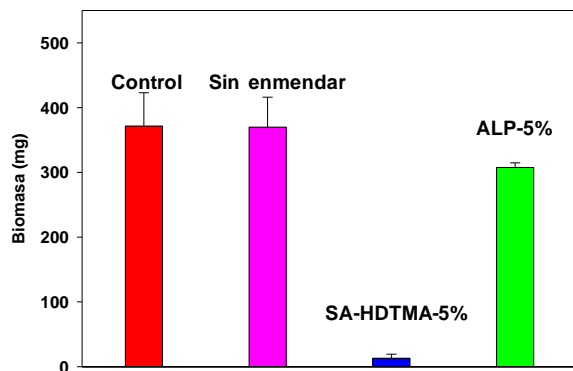


Figura IV.49. Peso herbáceo fresco de las macetas sin enmendar y enmendadas con SA-HDTMA y ALP al 5%, tras la simulación de lluvia abundante y la aplicación de MCPP.

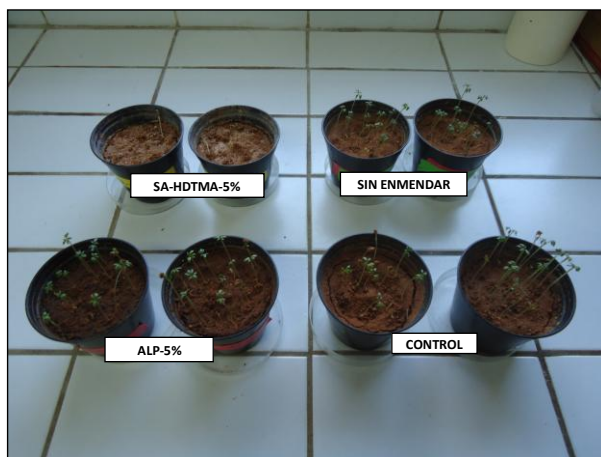


Figura IV.50. Resultado del bioensayo con simulación de alto riesgo de lixiviación tras el aporte elevado de agua para MCPP en S2.

La trascendencia de este experimento recae en el hecho de que un episodio de precipitaciones abundantes tras la aplicación del herbicida hubiera obligado a realizar una segunda aplicación por pérdida del mismo por lixiviación en el caso del suelo sin enmendar, lo que se podría evitar con la enmienda del suelo con la organoarcilla SA-HDTMA. Se puede concluir que la enmienda del suelo con SA-HDTMA conllevó una reducción de la lixiviación de MCPP y un aumento de la eficacia biológica tras episodios de abundantes lluvias poco después de la aplicación de herbicida lo que podría incluso permitir una reducción de las dosis de aplicación manteniendo un control adecuado de las malas hierbas.

IV.4. Evaluación del comportamiento de herbicidas en suelos enmendados con arcillas modificadas y residuos de almazara: Estudios de campo

Una vez establecido a escala de laboratorio el comportamiento de los herbicidas tras la adición de diferentes enmiendas, tanto de origen inorgánico (arcillas modificadas) como orgánico (residuos de almazara), se llevaron a cabo dos experimentos en condiciones reales de campo para comparar la magnitud de los procesos de transporte por lixiviación y escorrentía, junto con la persistencia y bioeficacia de los herbicidas fluometurón y terbutilazina, en un suelo típico de olivar tras la adición de SW-SPERM y alperujo (ALPcam). La selección de los herbicidas fluometurón y terbutilazina se realizó, en primer lugar, por ser utilizados conjuntamente como formulación comercial en el cultivo del olivar y, en segundo lugar, por ser fluometurón uno de los herbicidas objeto de estudio de esta memoria y terbutilazina un herbicida para el que cabía esperar un comportamiento marcadamente diferente al de fluometurón, ya que se trata de un herbicida ampliamente estudiado en la bibliografía bajo condiciones de campo, de elevada persistencia en suelos mediterráneos y con menor movilidad que fluometurón (Cabrera et al., 2008a, 2009; López-Piñero et al., 2011; Dolaptsoglou et al., 2010).

Ninguna de las parcelas experimentales empleadas habían recibido aplicaciones previas de los dos herbicidas. No obstante, antes del inicio de cada uno de los experimentos se realizó una toma de muestra del suelo de cada una de las parcelas en tres puntos diferentes de éstas y a cuatro profundidades para comprobar que no había residuo alguno de estos herbicidas.

IV.4.1. Efecto de la adición de alperujo en el comportamiento de fluometurón y terbutilazina

Para el estudio del efecto de la adición de alperujo en la lixiviación, persistencia, escorrentía y bioeficacia de los herbicidas fluometurón y terbutilazina

en condiciones de campo, se utilizaron dos parcelas experimentales, una de ellas sin enmendar y la otra enmendada con ALPcam a una dosis de 10 kg/m^2 y los herbicidas se aplicaron conjuntamente como formulación comercial a una concentración de 3 kg/ha . Asimismo, se utilizó otra parcela adicional a la cual no se le aplicó ningún herbicida con el fin de ser utilizada como control en cuanto al crecimiento de malas hierbas. Tras la aplicación, realizada el 27 de noviembre de 2008, se tomaron muestras de suelo, a diferentes profundidades y a tiempos que fueron seleccionados en función de las precipitaciones ocurridas, las cuales se congelaron para su posterior extracción y análisis. Simultáneamente se recogieron las aguas de escorrentía para analizar el contenido de los herbicidas en las mismas.

IV.4.1.1. Condiciones ambientales

Las temperaturas y las precipitaciones acontecidas durante el desarrollo del experimento se recogen en la Figura IV.51.

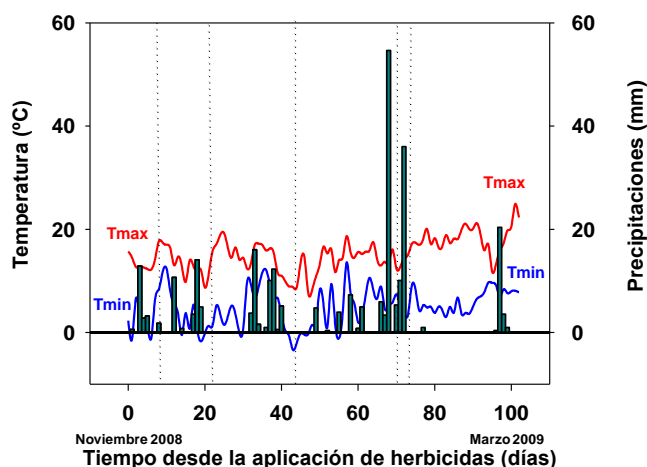


Figura IV.51. Datos de pluviometría (barras) y temperatura (líneas) registrados durante el desarrollo del experimento de campo con alperujo. Las líneas verticales discontinuas corresponden a los días de toma de muestras de aguas de escorrentía.

En general, las temperaturas fueron relativamente bajas como consecuencia de la época en la que se desarrolló el experimento (otoño-invierno). La temperatura máxima fluctuó entre 7.6 y 24.9 °C con una media de 15.2 °C mientras que la temperatura mínima osciló entre -3.4 y 13.6 °C con una media de 4.9 °C. La precipitación acumulada durante los 100 días que duró el experimento fue de 270 mm con máximos de 55 y 36 mm ocurridos a los 66 y 70 días del comienzo del experimento, respectivamente. Por lo tanto, los episodios de lluvias más intensas tuvieron lugar a tiempos relativamente prolongados desde el momento de la aplicación de los herbicidas.

IV.4.1.2. Extracciones de suelo: lixiviación y persistencia

Las concentraciones de fluometurón y terbutilazina (mg/kg de suelo seco) en las muestras de suelo tomadas de las parcelas, sin enmendar y enmendada con ALPcam, a diferentes profundidades y a distintos tiempos tras la aplicación de los herbicidas, se exponen en las Figuras IV.52 y IV.53 Tanto para la parcela sin enmendar como para la parcela enmendada con ALPcam y para todos los días de toma de muestras, las mayores concentraciones tanto de fluometurón como de terbutilazina se encontraron en los primeros 0-5 cm de suelo. Esto refleja la escasa lixiviación de ambos herbicidas, probablemente motivado por las escasas precipitaciones en las primeras semanas del experimento y porque los episodios más fuertes de lluvias acontecieron a tiempos más prolongados desde la aplicación de los herbicidas. Es necesario considerar que las concentraciones de fluometurón y terbutilazina en los primeros 5 cm de suelo justo después de la aplicación de los herbicidas, es decir a $t=0$, para la parcela enmendada con ALPcam (~ 8 mg/kg) fueron aproximadamente el doble que las obtenidas para la parcela sin enmendar (~ 4 mg/kg). Esto fue atribuido a la menor densidad aparente de ALPcam (~ 0.6 g/cm³), frente a la densidad aparente del suelo (~ 1.3 g/cm³), y al hecho de que ALPcam se acumuló en los 0-5 cm de suelo. De este modo, las concentraciones iniciales de los herbicidas de 4 mg/kg obtenidas para la parcela sin enmendar concuerdan con el

valor esperado de 4.4 mg/kg, estimado para una dosis de herbicidas de 3 kg/ha, una densidad aparente del suelo de 1.3 g/cm³ y asumiendo que los herbicidas se distribuyeron uniformemente en los 0-5 cm de suelo.

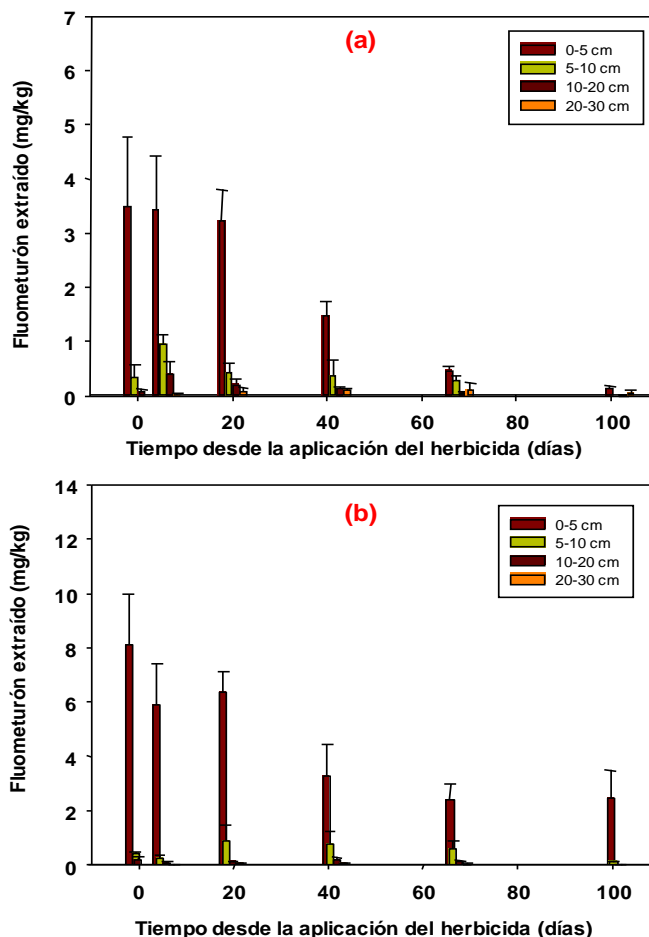


Figura IV.52. Concentración de fluometurón (mg/kg) a diferentes profundidades del suelo en la parcela sin enmendar (a) y en la parcela enmendada con ALPcam (b) a los diferentes días de toma de muestra.

A pesar de que tanto fluometurón como terbutilazina se acumularon en los primeros 0-5 cm de suelo durante el curso del experimento, ambos herbicidas alcanzaron mayores profundidades (5-10, 10-20, 20-30 cm) en la parcela sin tratar en comparación con la parcela enmendada con ALPcam. Por ejemplo, terbutilazina

fue detectada en repetidas ocasiones tanto a 10-20 cm como a 20-30 cm de profundidad en la parcela sin enmendar, siendo raramente detectada a estas profundidades en la parcela enmendada con ALPcam (Fig. IV.53). Un comportamiento análogo tuvo fluometurón (Fig. IV.52), por lo que puede decirse que ALPcam redujo la lixiviación de los herbicidas fluometurón y terbutilazina en el suelo. Este resultado contrasta con datos publicados recientemente por Cabrera et al. (2008a), quienes encontraron que la adición de alperujo produjo un efecto muy pequeño en la adsorción y lixiviación de terbutilazina en un suelo de olivar. No obstante, la textura del suelo (limo-arcilloso) y la dosis de alperujo ($\sim 2 \text{ kg/m}^2$) usados por Cabrera et al. (2008a) fueron diferentes a las del presente estudio. Otros estudios han demostrado que, la materia orgánica es el principal adsorbente para fluometurón y terbutilazina y que suelos enmendados con materia orgánica mostraron un incremento en la adsorción de los mismos, tanto en condiciones de laboratorio como de campo (Savage y Wauchope, 1974; Mueller et al., 1992; Locke et al., 2007; Delgado-Moreno et al., 2007b; Cabrera et al., 2007, 2009; Dolaptsoglou et al., 2010; López-Piñero et al., 2011). Por lo tanto, el incremento en materia orgánica generado por la adición de ALPcam produjo un aumento en la adsorción de fluometurón y terbutilazina, disminuyendo la lixiviación de ambos herbicidas.

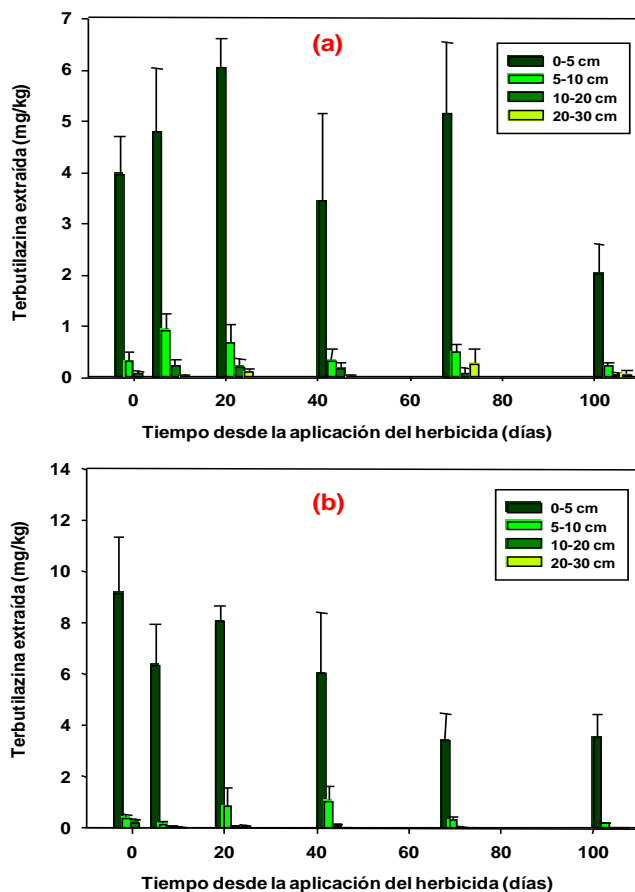


Figura IV.53. Concentración de terbutilazina (mg/kg) a diferentes profundidades del suelo en la parcela sin enmendar (a) y en la parcela enmendada con ALPcam (b) a los diferentes días de toma de muestra.

En cuanto a la persistencia de los herbicidas, ALPcam, no originó el mismo efecto en los dos herbicidas, de modo que terbutilazina presentó una mayor persistencia en ambas parcelas, tanto sin enmendar como enmendada, comparado con fluometurón (Fig. IV.52 y IV.53).

La persistencia de ambos herbicidas en los primeros 0-30 cm de suelo se ajustó a una cinética de primer orden para el cálculo del tiempo de vida media, TD_{50} , (Cuevas et al., 2008). Trabajos previos modelizaron la degradación de ambos

herbicidas usando una ecuación de primer orden (Mueller et al., 1992; Brown et al., 1994; Dolaptsoglou et al., 2007; Lancaster et al., 2008; López-Piñeiro et al., 2011):

$$C = C_0 e^{-kt} \quad \text{Ec. IV.4}$$

donde C es la concentración de herbicida a un tiempo t , C_0 es la concentración a $t = 0$ y k es una constante que define la caída exponencial de la curva. El tiempo necesario para que la concentración de herbicida se reduzca a la mitad (TD_{50}) puede calcularse, haciendo $C = C_0/2$, como:

$$TD_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad \text{Ec. IV.5}$$

Al final del experimento ($t = 102$ días), entre el 40-50% de la terbutilazina extraída al inicio ($t = 0$) estuvo aún presente en ambas parcelas. Cuando se aplicó la Ecuación IV.4 para describir los cambios en la concentración de terbutilazina en los primeros 30 cm de suelo con el tiempo, se obtuvo un tiempo de vida media (TD_{50}) de 114 días para la parcela sin enmendar y de 72 días para la parcela enmendada con ALPcam. No obstante, hay que considerar que las diferencias no fueron significativas debido a que los datos no se ajustaron bien a una cinética de primer orden ($R^2 < 0.78$). Según diferentes trabajos, la vida media de terbutilazina en suelos oscila desde pocos días hasta varios meses, en función de las características del suelo, condiciones medioambientales y tratamientos previos del herbicida (Tomlin, 2006; López-Piñeiro et al., 2011). Los valores de vida media más elevados para terbutilazina se han encontrado para suelos de textura gruesa y bajo contenido en materia orgánica, similares al empleado en este estudio (Cabrera et al., 2007). No obstante, hay que considerar que debido a la época en la que se realizó el experimento de campo, las bajas temperaturas promedio pudieron contribuir a retrasar la degradación de terbutilazina.

Fluometurón se disipó más rápido que terbutilazina, produciéndose una marcada disminución de su concentración a partir de los 40 días desde el inicio del

experimento (Fig. IV.52). Para este herbicida, al contrario que con terbutilazina, la caída en la concentración de fluometurón en la parcela sin enmendar fue más pronunciada que en la parcela enmendada con ALPcam (Fig. IV.53), reflejando que el alperujo prolongó la persistencia de este herbicida en el horizonte más superficial del suelo, lo cual es congruente con los resultados de laboratorio (apartado IV.3.1.3). Aplicando de nuevo una cinética de primer orden para describir los datos experimentales, el tiempo de vida media (TD_{50}) se correspondió con 24 días para el suelo sin enmendar y 58 días para el suelo enmendado con ALPcam, con un buen ajuste de los datos experimentales al modelo ($R^2 > 0.92$). Fluometurón presenta, principalmente, una degradación microbiana en suelos (Bozarth y Funderburk, 1971; Sorensen et al., 2003a; Locke et al., 2007; Lancaster et al., 2008) y generalmente se ha asociado que un incremento en materia orgánica genera mayor actividad microbiana (Mueller et al., 1992). Según esto, como se ha expuesto previamente, existen trabajos en los que la degradación de fluometurón se ve favorecida en suelos enmendados con diferentes enmiendas orgánicas respecto a suelos sin enmendar (Bozarth y Funderburk, 1971; Bouchard et al., 1982; Mueller et al., 1992; Wagner y Zablotowicz, 1997). Sin embargo, como ocurrió para el ensayo de laboratorio, en nuestro caso el incremento en la persistencia de fluometurón tras la enmienda con alperujo puede explicarse porque el incremento de materia orgánica originada por la adición de la enmienda aumentó la disponibilidad de carbono orgánico como sustrato para el crecimiento microbiano al mismo tiempo que redujo la biodisponibilidad del herbicida causado por la adsorción del mismo a ALPcam, lo que podría reducir la biodegradación y generaría una mayor persistencia en la parcela enmendada (Albarrán et al., 2003; Cabrera et al., 2007, 2008b; López-Piñeiro et al., 2011). Este fenómeno ha sido observado en otros experimentos en los que independientemente de la causa del incremento de materia orgánica en el suelo, la persistencia de fluometurón aumentó como consecuencia de una mayor adsorción (Brown et al., 1994; Zablotowicz et al., 2000; Locke et al., 2007; Lancaster et al., 2008).

IV.4.1.3. Escorrentía

Las Tablas IV.29 y IV.30 junto a las Figuras IV.54 y IV.55 resumen los datos del análisis de las aguas de escorrentía recogidas tanto en la parcela sin enmendar como en la parcela enmendada con ALPcam durante el transcurso del experimento. Los primeros episodios de lluvias fueron de intensidad baja a moderada (Tabla IV.29), de tal manera que los eventos de lluvia más fuertes se dieron a los días 66 y 70 desde la aplicación de los herbicidas (Fig. IV.51). Sin embargo, las concentraciones más elevadas de fluometurón y terbutilazina, tanto en disolución como asociada a la materia particulada en suspensión, se registraron para los primeros episodios de lluvias (Tablas IV.30 y IV.31 y Fig. IV.54), lo que confirma que los episodios de escorrentía justo después de la aplicación de herbicidas son especialmente importantes porque el herbicida puede ser transportado antes de que tengan lugar fenómenos de degradación y/o de lixiviación que lo protejan de la escorrentía (Wiese et al., 1980; Leonard et al., 1990; Baughman et al., 2001; Hermosín et al., 2009).

Tabla IV.29. Volumen de las aguas de escorrentía y concentración de materia particulada en las mismas recogidas en la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam.

Tiempo muestreo (días)	Sin enmendar		Enmendado con ALPcam	
	Volumen recogido (l)	Materia particulada (g/l)	Volumen recogido (l)	Materia particulada (g/l)
6	0.04	2.78 ± 0.26 ^a	0.10	2.46 ± 0.17
20	0.27	1.89 ± 0.05	0.59	1.78 ± 0.09
42	0.02	0.68 ± 0.02	0.37	0.45 ± 0.02
68	3.25	1.08 ± 0.03	2.60	0.79 ± 0.10
71	24.0	0.44 ± 0.29	6.50	1.33 ± 0.06

^a media ± error estándar

En los primeros episodios de escorrentía, ocurridos los días 6, 20 y 42 después de la aplicación de los herbicidas, las concentraciones de **fluometurón** tanto en disolución como asociado a la materia particulada de la parcela sin enmendar fueron mayores que las encontradas para **terbutilazina** (Tablas IV.29 y IV.31 y Fig. IV.54), probablemente porque las pérdidas de fluometurón por escorrentía se vieron favorecidas por su mayor solubilidad en agua (110 mg/l) comparada con terbutilazina (8.5 mg/l). Para los últimos episodios registrados a los 68 y 71 días de la aplicación de los herbicidas, las concentraciones de terbutilazina en disolución y asociada a las partículas en suspensión fueron similares o incluso mayores a las analizadas para fluometurón, consecuencia, posiblemente, de la mayor acumulación de terbutilazina en los primeros 0-5 cm de suelo comparado con fluometurón, como resultado de la mayor persistencia del primero demostrada a lo largo del desarrollo del experimento (Baughman et al., 2001).

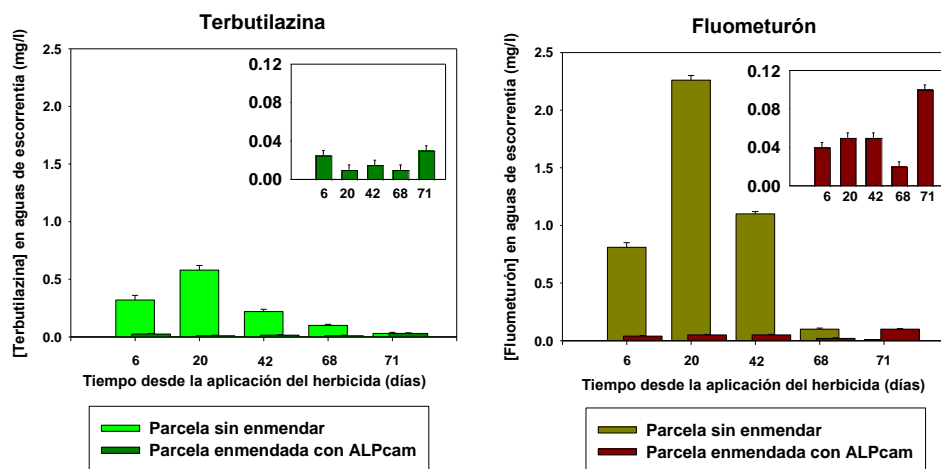


Figura IV.54. Concentración de terbutilazina y fluometurón en las aguas de escorrentía para la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam.

Los coeficientes de distribución para los herbicidas, K_d , entre las fases sólida y en disolución en las aguas de escorrentía, fueron calculados dividiendo la cantidad de herbicida adsorbido a la materia particulada en suspensión por la concentración

IV. Resultados y Discusión

de herbicida presente en disolución (Tablas IV.30 y IV.31). En todos los episodios de lluvia, terbutilazina presentó valores de K_d más elevados que fluometurón, reflejando una mayor adsorción y, por tanto, una mayor tendencia a ser transportada por la materia particulada en suspensión (Potter et al., 2006). En este sentido, es necesario mencionar que la cantidad acumulada de materia particulada perdida en las aguas de escorrentía durante el experimento disminuyó de 14.7 ± 0.5 g para la parcela sin enmendar a 12.2 ± 0.4 g para la parcela enmendada con ALPcam y, según se desprende de la Tabla IV.29, las mayores pérdidas tuvieron lugar durante los dos episodios de lluvias más intensos (68 y 71 días). De este resultado se podría inferir que el alperujo fue útil contra la erosión evitando pérdidas de suelo durante los períodos de lluvias fuertes (Lozano-García et al., 2011).

Tabla IV.30. Concentraciones de terbutilazina en disolución y en las partículas en suspensión de las aguas de escorrentía recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam. Coeficientes de distribución K_d para terbutilazina adsorbida en la materia particulada presente en las aguas de escorrentía.

Día	Sin enmendar			Enmendada con ALPcam		
	Terbutilazina en disolución	Terbutilazina en materia particulada	K_d	Terbutilazina en disolución	Terbutilazina en materia particulada	K_d
	(mg/l)	(mg/kg)	(l/kg)	(mg/l)	(mg/kg)	(l/kg)
6	0.32 ± 0.04^a	102.4 ± 1.4	320	0.02 ± 0.01	14.1 ± 0.3	705
20	0.58 ± 0.04	120.6 ± 1.6	208	0.01 ± 0.00	6.57 ± 0.8	657
42	0.22 ± 0.02	229.4 ± 1.1	1043	0.01 ± 0.00	23.6 ± 2.5	2360
68	0.10 ± 0.01	46.1 ± 5.0	461	0.01 ± 0.00	n.d ^b	n.d.
71	0.03 ± 0.01	38.8 ± 8.0	1293	0.03 ± 0.01	12.23 ± 0.2	408

^a media \pm error estándar

^b no detectado

Tabla IV.31. Concentraciones de fluometurón en disolución y en las partículas en suspensión de las aguas de escorrentía recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam. Coeficientes de distribución K_d para fluometuón adsorbida en la materia particulada presente en las aguas de escorrentía.

Día	Sin enmendar			Enmendada con ALPcam		
	Fluometurón en disolución	Fluometurón en materia particulada	K_d	Fluometurón en disolución	Fluometurón en materia particulada	K_d
	(mg/l)	(mg/kg)	(l/kg)	(mg/l)	(mg/kg)	(l/kg)
6	0.81 ± 0.04^a	118.1 ± 0.6	146	0.04 ± 0.01	3.2 ± 0.8	80
20	2.26 ± 0.04	169.7 ± 0.3	75	0.05 ± 0.01	8.5 ± 2.6	170
42	1.10 ± 0.02	735.2 ± 2.0	668	0.05 ± 0.01	32.5 ± 5.8	650
68	0.10 ± 0.01	19.6 ± 2.0	196	0.02 ± 0.00	10.3 ± 2.3	515
71	0.01 ± 0.01	n.d ^b	n.d.	0.10 ± 0.01	13.9 ± 0.3	139

^a media \pm error estándar

^b no detectado

Uno de los resultados más relevantes del experimento de escorrentía fue que para todas las muestras de agua de escorrentía analizadas, las concentraciones de ambos herbicidas para la parcela sin enmendar fueron entre 5 y 60 veces mayores que en el caso de la parcela enmendada con alperujo (Fig. IV.54). Del mismo modo, las concentraciones de fluometurón y terbutilazina asociadas a las partículas en suspensión fueron de 2 a 40 veces superiores para la parcela sin enmendar comparada con la parcela enmendada con ALPcam (Tablas IV.30 y IV.31), con la única excepción de la determinada en la parcela enmendada con ALPcam correspondiente al día 71 después de la aplicación de los herbicidas que presentó mayor cantidad de fluometurón que en la parcela enmendada, consecuencia de que fluometurón en la parcela sin enmendar ya se había disipado tras los 71 días de la aplicación (Fig. IV.52).

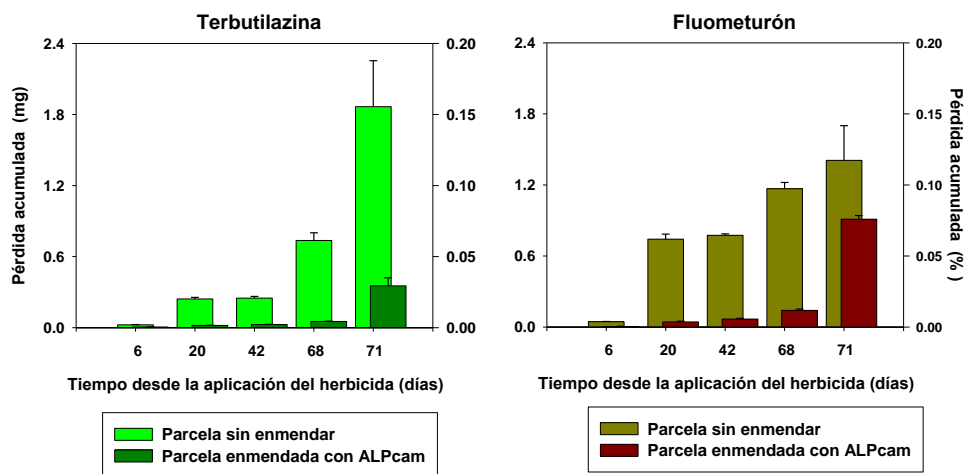


Figura IV.55. Pérdidas por escorrentía acumuladas de terbutilazina y fluometurón en las parcelas sin enmendar y enmendada con ALPcam durante el experimento.

El total de la cantidad de terbutilazina perdida por escorrentía durante el experimento, calculada como la suma total de la presente en disolución y la asociada a la materia particulada, fue de $0.16 \pm 0.03\%$ de la cantidad aplicada en el caso de la parcela sin enmendar y de $0.03 \pm 0.01\%$ en el caso de la parcela enmendada con ALPcam. Para fluometurón, las pérdidas totales de herbicida por escorrentía fueron de $0.12 \pm 0.02\%$ para la parcela sin enmendar y de $0.08 \pm 0.01\%$ para la parcela enmendada con ALPcam (Fig. IV.55). El descenso general en las pérdidas de herbicidas por escorrentía por el tratamiento con alperujo se debió a un incremento de la capacidad de retención del suelo generado por la adición de la enmienda (Zablotowicz et al., 2007; Cabrera et al., 2009). Aparentemente, las concentraciones más elevadas de materia orgánica soluble (MOS), a juzgar por la oscuridad de las aguas de escorrentía recogidas en la parcela enmendada con alperujo (Fig. IV.56), no contribuyó significativamente al transporte facilitado de los herbicidas fluometurón y terbutilazina en los procesos de escorrentía.



Figura IV.56. Muestras de aguas de escorrentía recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con ALPcam tras un episodio de lluvia ($t = 20$ días).

IV.4.1.4. Bioeficacia

Al finalizar el experimento se evaluó la bioeficacia de los herbicidas comparando la biomasa obtenida de la parcela tratada con ALPcam con la obtenida de la parcela sin enmendar y la parcela control, la cual no había sufrido tratamiento alguno. Los resultados dejaron patente que la eficacia de los herbicidas en la parcela enmendada con alperujo fue similar a la encontrada en la parcela sin enmendar, en ambos casos con un control muy notable del crecimiento de malas hierbas comparado con la parcela control sin tratamiento alguno (Fig. IV.57).

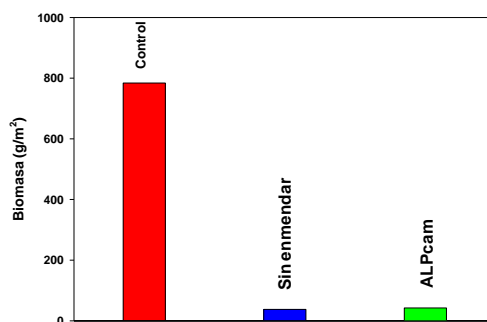


Figura IV.57. Peso herbáceo de las parcelas por metro cuadrado al finalizar el experimento de campo con alperujo.

IV.4.2. Efecto de la adición de arcilla modificada en el comportamiento de fluometurón y terbutilazina

Tras llevar a cabo el estudio de la adición de residuo de almazara en el comportamiento de los herbicidas fluometurón y terbutilazina en condiciones de campo, se llevó a cabo un segundo experimento para evaluar los efectos de la organoarcilla SW-SPERM. El experimento constó, igualmente, de dos parcelas experimentales, una de ellas sin enmendar y la otra enmendada con SW-SPERM añadida a una dosis equivalente a 2 t/ha y los herbicidas se aplicaron conjuntamente como formulación comercial a una concentración de 3 kg/ha el día 7 de marzo de 2011. También preparó una parcela adicional sin tratamiento alguno empleada como control en cuanto al crecimiento de malas hierbas. Tras la aplicación, se operó del mismo modo que para el caso del alperujo. Se tomaron muestras de suelo a diferentes profundidades para después ser congeladas, extraídas y analizadas por HPLC y también se recogieron las aguas de escorrentía para analizar el contenido de herbicidas en las mismas.

IV.4.2.1. Condiciones ambientales

Las temperaturas y las precipitaciones ocurridas durante el desarrollo del experimento se recogen en la Figura IV.58.

Por lo general, las condiciones meteorológicas fueron visiblemente diferentes a las del experimento con alperujo. Las temperaturas fueron moderadas y notablemente más cálidas por desarrollarse la mayor parte del experimento en época primaveral. Se alcanzaron temperaturas máximas entre 12.2 y 35.4 °C con una media de 26.0 °C y temperaturas mínimas entre 5.6 y 19.9 °C con una media de 13.2 °C. Las precipitaciones acumuladas a lo largo de todo el experimento fueron ligeramente inferiores a las del experimento con ALPcam, 199 mm frente a 270 mm, y al contrario que en dicho experimento, los picos de máxima precipitación se registraron poco después de la aplicación de los herbicidas, en los días 1 y 6 con 35 y 27 mm, respectivamente, y posteriormente hacia la mitad del experimento, en el día 54, con 29 mm (Fig. IV.57).

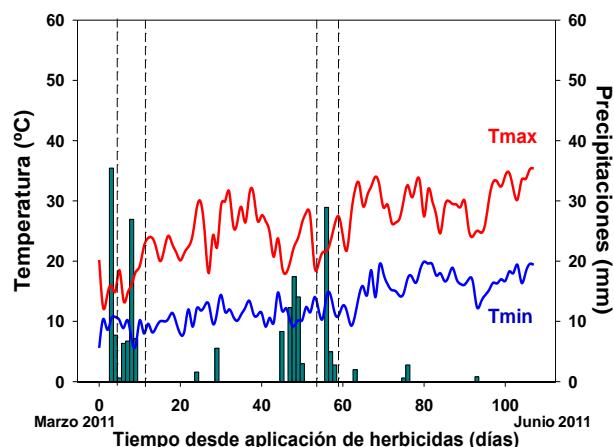


Figura IV.58. Datos de pluviometría (barras) y temperatura (líneas) registrados durante el desarrollo del experimento de campo con organoarcilla. Las líneas verticales discontinuas corresponden a los días de toma de muestra de aguas de escorrentía.

IV.4.2.2. Extracciones de suelo: lixiviación y persistencia

Las concentraciones de fluometurón y terbutilazina (mg/kg de suelo seco) extraídas a diferentes profundidades y a distintos tiempos de toma de muestra en la parcela sin enmendar y enmendada con la organoarcilla SW-SPERM se muestran en las Figuras IV.59 y IV.60, respectivamente. Conforme al experimento con alperujo, las concentraciones iniciales de los herbicidas a tiempo $t = 0$, asumiendo una densidad aparente del suelo equivalente a 1.3 g/cm^3 y distribución uniforme de los mismos en los primeros 5 cm de suelo para una dosis de 3 kg/ha, deberían estar en torno a los 4.4 mg/kg. En este caso la adición de SW-SPERM no afectó a la densidad aparente del suelo como lo hizo el alperujo, y las concentraciones iniciales extraídas se encontraron ligeramente más bajas a 4 mg/kg. Esto se puede atribuir a que al comienzo del experimento los herbicidas no se han distribuido homogéneamente en el suelo, existiendo elementos que pueden interceptar la llegada de éstos al suelo (Cabrera et al., 2009); prueba de ello es la variabilidad de la medida observada por las barras de error (Fig. IV.59 y IV.60).

Lo más destacable que se desprende de las Figuras IV.59 y IV.60 es que, a lo largo del desarrollo del experimento, **fluometurón** llegó a alcanzar profundidades mayores en la parcela sin enmendar que en la enmendada con SW-SPERM. Por ejemplo, en los días 10 y 30 de toma de muestras las máximas concentraciones de fluometurón en la parcela sin enmendar se extrajeron de los 5-10 cm y 10-20 cm, respectivamente, mientras que en la parcela enmendada con SW-SPERM la concentración máxima de fluometurón se mantuvo siempre en los primeros 5 cm. A pesar de que los episodios de lluvias más intensos tuvieron lugar en los inicios del experimento (Fig. IV.58), la organoarcilla tuvo la facultad de retener fluometurón en el horizonte más superficial, haciendo que menos cantidad del mismo alcanzara mayores profundidades. **Terbutilazina**, por el contrario, se concentró mayoritariamente en los primeros 0-5 cm de profundidad, tanto en la parcela sin enmendar como en la enmendada con SW-SPERM. Esto pudo ser consecuencia de la baja movilidad presentada por terbutilazina en suelos (Tomlin, 2006; Cabrera et al., 2007) y de que no influyera la capacidad de adsorción de la organoarcilla, puesto que SW-SPERM presenta una capacidad adsorbente para terbutilazina mucho menor que para fluometurón, si comparamos los valores obtenidos en el apartado IV.3.1.1.1. para fluometurón frente a los publicados por Celis et al. (2007) para terbutilazina bajo las mismas condiciones experimentales.

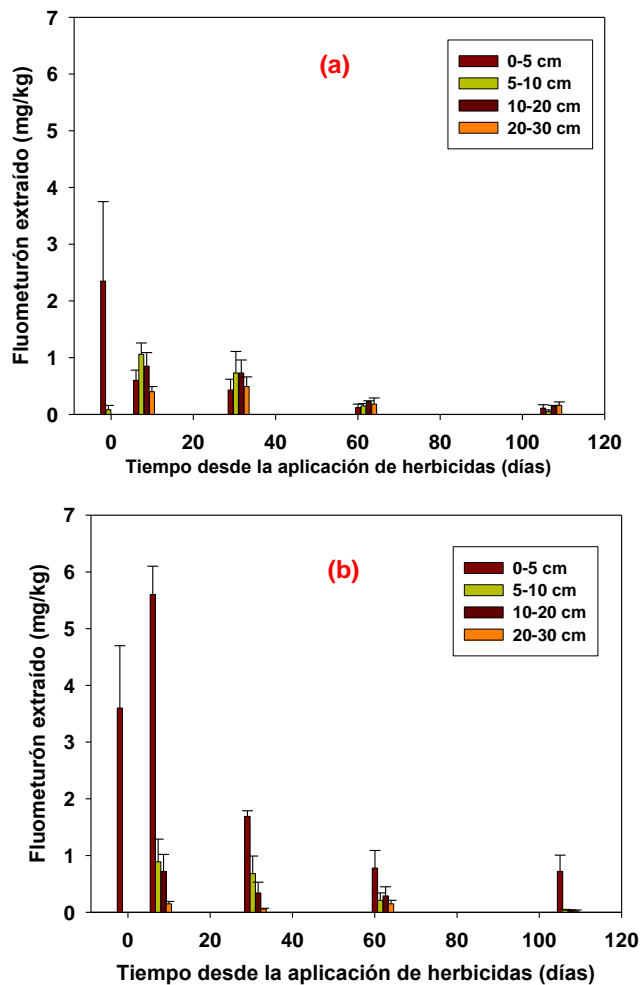


Figura IV.59. Concentración de fluometurón (mg/kg) a diferentes profundidades del suelo en la parcela sin enmendar (a) y en la parcela enmendada con SW-SPERM (b) a los diferentes días de toma de muestras.

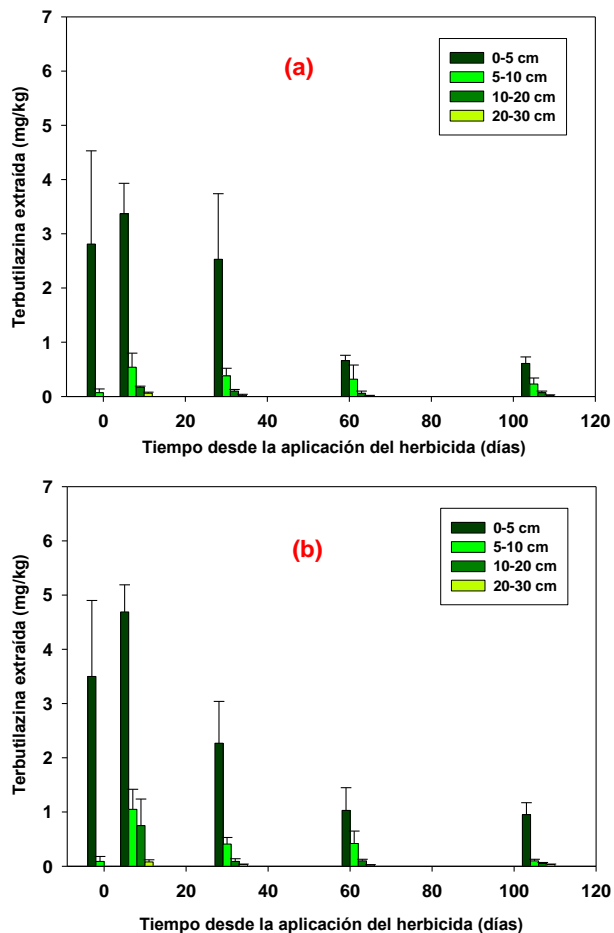


Figura IV.60. Concentración de terbutilazina (mg/kg) a diferentes profundidades del suelo en la parcela sin enmendar (a) y en la parcela enmendada con SW-SPERM (b) a los diferentes días de toma de muestras.

La persistencia de los herbicidas en este experimento presentó la misma tendencia que en el experimento con ALPcam, es decir, fluometurón exhibió mayor persistencia en la parcela enmendada con la organoarcilla que en la parcela sin enmendar, pero no tanto terbutilazina. Para **fluometurón** los tiempos de vida media (TD_{50}) obtenidos para la variación de la concentración en los primeros 5 cm de suelo

a través del ajuste a una cinética de primer orden (Ec. IV.4) fueron de 27 días para la parcela sin enmendar y de 37 días para la parcela enmendada con SW-SPERM. Hay que destacar que en este caso sólo se modelizaron los datos de los primeros 5 cm de suelo para mejorar el ajuste a una cinética de primer orden con coeficientes de regresión (R^2) de 0.790 y 0.808, para la parcela sin enmendar y enmendada con SW-SPERM, respectivamente. Teniendo en cuenta que los estudios realizados en condiciones controladas de laboratorio indicaron que la degradación de fluometurón no se vio afectada por la adición de SW-SPERM (ver apartado IV.3.1.1.1.), la mayor persistencia en la parcela enmendada debe atribuirse a una menor incidencia de los procesos de transporte (lixiviación y escorrentía) en comparación con la parcela sin enmendar. Los valores de TD_{50} obtenidos para fluometurón se sitúan dentro del rango de valores medios recogidos en la bibliografía para este herbicida (Tomlin, 2006), si bien son mayores que los aportados por Mueller et al. (1992) de 18 días y por Lancaster et al. (2008) de 28 días, pero muy similares a los 49 días de Brown et al. (1994). Probablemente estos valores discrepantes puedan ser debidos a variaciones en parámetros característicos de cada suelo como el contenido de materia orgánica, pH, masa microbiana, actividad microbiana, etc. (Zablotowicz et al. 2000; Lancaster et al. 2008).

Terbutilazina presentó en este experimento valores de tiempos de vida media similares tanto en la parcela sin enmendar, $TD_{50} = 40$ días ($R^2=0.844$), como enmendada con SW-SPERM, $TD_{50} = 46$ días ($R^2=0.850$). Ambos valores se encuentran dentro del rango de los recopilados en la bibliografía (Cabrera et al., 2009; López-Piñeiro et al., 2011) pero son menores que los registrados para el caso del experimento anterior con ALPcam. Es necesario reiterar que las diferencias pueden ser ocasionadas por diversos factores o parámetros, como las condiciones ambientales, lluvias acontecidas o temperaturas alcanzadas, que fueron durante el desarrollo de este experimento superiores, con una media en las temperaturas máximas de 26°C frente a las 15°C del primero. Además, hay que tener presente que SW-SPERM no fue tan buen adsorbente para terbutilazina como para fluometurón.

Sobre la base de los resultados obtenidos, para aquellas situaciones en las que se coapliquen dos herbicidas con diferentes características, podría ser conveniente la adición simultánea de organoarcillas afines o con propiedades adsorbentes adecuadas para cada uno de los herbicidas en cuestión.

IV.4.2.3. Escorrentía

Los resultados más relevantes del experimento, en cuanto al análisis de aguas de escorrentía y materia particulada se refiere, se recogen en la Fig. IV.61 y en las Tablas IV.32, IV.33 y IV.34.

Los eventos más copiosos de lluvias ocurrieron en los días 2 y 7 tras la aplicación de los herbicidas y en ellos se detectaron las mayores concentraciones de herbicidas tanto en disolución como asociados a partículas, poniendo de manifiesto que los primeros episodios de lluvias son los más importantes para las pérdidas de herbicidas por escorrentía, antes de que otros procesos como la degradación y/o la lixiviación tengan lugar (Reichenberger et al., 2007). En general, las concentraciones de fluometurón tanto en disolución como asociado a la materia particulada fueron menores que las de terbutilazina para la mayoría de los episodios registrados, tanto para la parcela enmendada como para la parcela sin enmendar (Fig. IV.61; Tablas IV.33 y IV.34). Dado que fluometurón presenta una mayor afinidad por la fase acuosa que terbutilazina, esto podría indicar que terbutilazina se transportó principalmente asociada a las partículas. Este hecho es consistente con los valores más elevados de K_d obtenidos para terbutilazina frente a los de fluometurón para aquellos casos en los que fue posible su obtención (Tablas IV.33 y IV.34), así como con las elevadas pérdidas de suelo acontecidas durante el experimento (> 100 g suelo/parcela) debidas a la intensidad de las lluvias registradas.

Tabla IV.32. Volumen de las aguas de escorrentía y concentración de materia particulada en las mismas recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con SW-SPERM.

Tiempo muestreo (días)	Sin enmendar		Enmendado con SW-SPERM	
	Volumen recogido (l)	Materia particulada (g/l)	Volumen recogido (l)	Materia particulada (g/l)
3	5	1.70 ± 0.09^a	7.25	1.82 ± 0.20
11	30	2.40 ± 0.46	37.5	4.20 ± 0.71
51	14	1.81 ± 0.13	11	1.61 ± 0.32
62	10	1.09 ± 0.69	15	1.12 ± 0.56

^a media \pm error estándar

En cuanto al efecto de la adición de organoarcilla, para el primer episodio de escorrentía, registrado 2 días después de la aplicación de los herbicidas, no se observaron diferencias importantes entre las pérdidas de herbicidas de la parcela sin tratar y tratada con SW-SPERM (Fig. IV.61); sin embargo, a tiempos más prolongados (días 11, 51 y 63 después de la aplicación de los herbicidas), en la parcela enmendada con SW-SPERM se obtuvieron concentraciones superiores de fluometurón respecto a la parcela sin enmendar, tanto en disolución, como asociado a la materia particulada (Tabla IV.34). Probablemente, la adsorción del herbicida a la organoarcilla aumentó la persistencia de éste en el horizonte más superficial haciéndolo más susceptible de sufrir pérdidas por escorrentía, bien en disolución, bien por un arrastre de las propias partículas de organoarcilla con el herbicida adsorbido. De hecho, atendiendo a los datos de Tabla IV.32, la adición de SW-SPERM no supuso un descenso del arrastre de partículas con respecto a la parcela sin tratar, sino todo lo contrario. Las pérdidas totales de materia particulada fueron de 116.7 ± 0.3 g para la parcela sin enmendar y de 205.2 ± 0.4 g para la parcela tratada con SW-SPERM, por lo que la organoarcilla no tuvo la habilidad de reducir la erosión, como lo hizo el alperujo en el primer experimento de campo. Por ello, el aumento de la escorrentía de fluometurón en la parcela enmendada con SW-SPERM pudo estar relacionado directamente con un arrastre del herbicida adsorbido a la organoarcilla. Por su parte, para terbutilazina no se apreciaron

IV. Resultados y Discusión

diferencias entre las parcelas sin tratar y tratada con SW-SPERM, como consecuencia de la escasa movilidad de terbutilazina en el suelo, que hizo que permaneciera mayoritariamente en el horizonte más superficial a lo largo de todo el experimento (Fig. IV.60), y de la escasa capacidad de SW-SPERM de adsorber el herbicida.

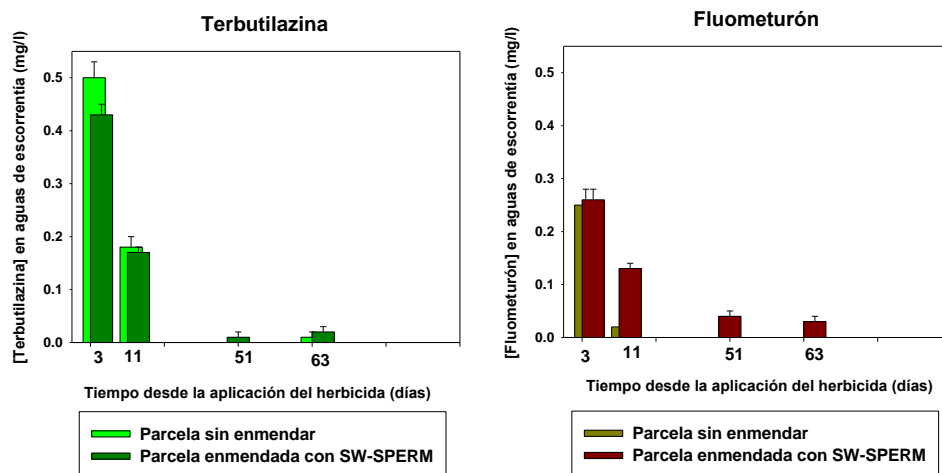


Figura IV.61. Concentración de terbutilazina y fluometurón en las aguas de escorrentía recogidas de la parcela sin enmendar y enmendada con SW-SPERM.

Tabla IV.33. Concentraciones de terbutilazina en disolución y en las partículas en suspensión de las aguas de escorrentía recogidas de las parcelas sin enmendar y enmendada con SW-SPERM. Coeficientes de distribución K_d para terbutilazina adsorbida en la materia particulada procedentes de las aguas de escorrentía.

Día	Sin enmendar			Enmendada con SW-SPERM		
	Terbutilazina en disolución	Terbutilazina en materia particulada	K_d	Terbutilazina en disolución	Terbutilazina en materia particulada	K_d
	(mg/l)	(mg/kg)	(l/kg)	(mg/l)	(mg/kg)	(l/kg)
3	0.50 ± 0.03^a	45.2 ± 0.6	90	0.43 ± 0.02	43.1 ± 0.8	100
11	0.18 ± 0.02	17.6 ± 4.1	98	0.17 ± 0.01	7.4 ± 1.3	44
51	n.d ^b	9.0 ± 0.3	--	0.01 ± 0.01	7.7 ± 2.6	770
63	0.01 ± 0.01	16.6 ± 8.4	1660	0.02 ± 0.01	n.d	--

^a media \pm error estándar

^b no detectado

Tabla IV.34. Concentraciones de fluometurón en disolución y en las partículas en suspensión de las aguas de escorrentía recogidas de las parcelas sin enmendar y enmendadas con SW-SPERM. Coeficientes de distribución K_d para fluometurón adsorbido en la materia particulada procedentes de las aguas de escorrentía.

Día	Sin enmendar			Enmendada con SW-SPERM		
	Fluometurón en disolución	Fluometurón en materia particulada	K_d	Fluometurón en disolución	Fluometurón en materia particulada	K_d
	(mg/l)	(mg/kg)	(l/kg)	(mg/l)	(mg/kg)	(l/kg)
3	0.25 ± 0.03^a	4.6 ± 0.2	18	0.26 ± 0.02	10.6 ± 0.7	41
11	0.02 ± 0.01	n.d ^b	--	0.13 ± 0.01	1.37 ± 0.3	11
51	n.d	n.d	--	0.04 ± 0.01	3.9 ± 0.1	98
63	n.d.	n.d.	--	0.01 ± 0.01	n.d.	--

^a media \pm error estándar

^b no detectado

Las pérdidas acumuladas por escorrentía como suma de las cantidades totales en disolución y asociada a la materia particulada, fueron similares para el caso de terbutilazina, en la parcela sin enmendar ($0.84 \pm 0.7\%$) y en la parcela enmendada con SW-SPERM ($0.98 \pm 0.01\%$), mientras que para fluometurón, se registró una pérdida acumulativa de $0.16 \pm 0.01\%$ en la parcela sin enmendar frente a $0.76 \pm 0.5\%$ en la parcela enmendada (Fig. IV.62). La mayor pérdida de fluometurón en la parcela enmendada con organoarcilla es debida al incremento en la adsorción que supuso la adición de la enmienda y que mantuvo al herbicida en los primeros 5 cm de suelo (Fig. IV.59), así como a un posible arrastre de partículas de arcilla (Tabla IV.32). En este experimento se pone de manifiesto que las lluvias más intensas que se dieron durante el desarrollo del mismo tuvieron un efecto mayor en el arrastre de partículas, prueba de ello es que la pérdida acumulativa de ambos herbicidas en el caso de SW-SPERM fue casi del 1% mientras que en el caso de alperujo se situaron en torno al 0.20%.

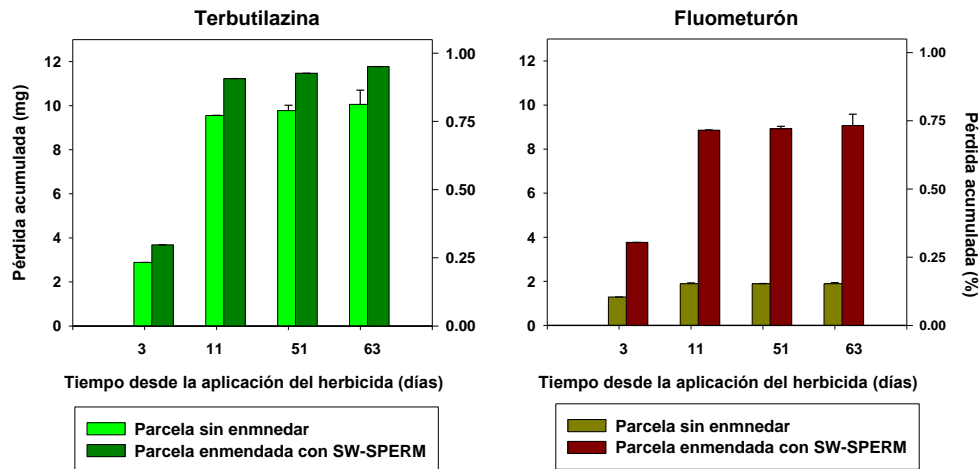


Figura IV.62. Pérdidas acumuladas de terbutilazina y fluometurón en las parcelas sin enmendar y enmendada con SW-SPERM durante el experimento.

IV.4.2.4. Bioeficacia

Al final del experimento se evaluó la eficacia biológica de los herbicidas para el control de las malas hierbas en la parcela sin enmendar y enmendada con la organoarcilla SW-SPERM. Transcurridos los 107 días de duración del experimento se pesaron las malas hierbas, y el peso herbáceo fresco por metro cuadrado de cada una de las parcelas se muestra en la Figura IV.63. Se infiere que la organoarcilla no sólo permitió que los herbicidas ejercieran su función sino que además incrementó la eficacia de éstos, puesto que en la parcela enmendada con la organoarcilla no crecieron malas hierbas a diferencia de lo observado para la parcela sin enmendar. Se pone de manifiesto, por tanto, que el uso de organoarcillas como enmiendas agrícolas puede ayudar a retener herbicidas en el horizonte más superficial del suelo mejorando incluso la eficacia de los mismos.

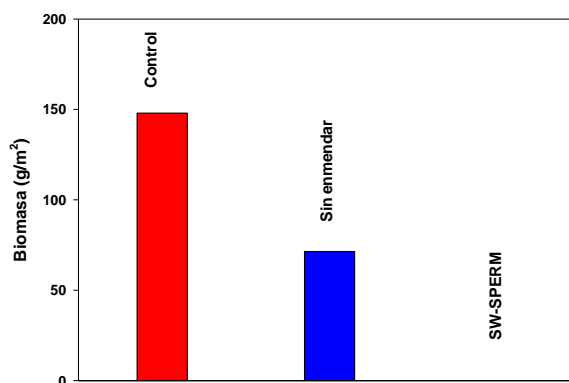


Figura IV.63. Peso herbáceo de las parcelas por metro cuadrado al finalizar el experimento de campo con SW-SPERM.



V. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el desarrollo de esta Tesis Doctoral permiten establecer las siguientes conclusiones:

- 1.- Los estudios de preparación y caracterización de organoarcillas realizados en este trabajo confirman la facilidad de incorporar cationes orgánicos en el espacio interlaminar de montmorillonitas, para la obtención de organoarcillas con unas propiedades estructurales y funcionales que pueden diseñarse en función de la naturaleza del mineral de la arcilla y del catión modificador.
- 2.- La caracterización de los residuos orgánicos procedentes de almazara, seleccionados para el estudio, dos alperujos frescos (ALP y ALPcam) y uno compostado (ALPcom), pusieron de manifiesto importantes diferencias en las características de los mismos relacionadas fundamentalmente con el proceso de compostaje. Los alperujos frescos mostraron un pH inferior, un mayor contenido en materia orgánica y un menor grado de condensación que el alperujo compostado.
- 3.- Los estudios de adsorción-desorción de los herbicidas fluometurón, MCPP y MCPP-P a montmorillonitas modificadas con diferentes cationes orgánicos ilustraron la posibilidad de diseñar organoarcillas con una afinidad muy elevada por herbicidas móviles con diferentes características químicas, compatibilizando adecuadamente las características del herbicida con las propiedades funcionales y estéricas de la organoarcilla. Por ejemplo, fluometurón presentó una afinidad muy elevada por una montmorillonita de baja carga laminar (SWy-2) modificada con el polication espermina (SPERM), mientras que MCPP y MCPP-P presentaron una alta afinidad por una montmorillonita de elevada carga laminar (SAz-1) modificada con el polímero hexadimetrina (HEXADIM). En ambos casos, las interacciones entre grupos funcionales específicos de los herbicidas y de los cationes orgánicos modificadores de las organoarcillas jugó un papel principal en el proceso de adsorción. Además, todos los herbicidas presentaron una elevada afinidad por las montmorillonitas modificadas con el catión hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) como resultado de interacciones

hidrofóbicas entre los herbicidas y la fase orgánica proporcionada por este catión interlaminar.

- 4.- Para los herbicidas estudiados, el alperujo fresco mostró una capacidad adsorbente más elevada que el alperujo compostado, lo que se atribuyó al mayor contenido en materia orgánica y mayor acidez del alperujo no compostado. Los coeficientes de adsorción de los herbicidas normalizados al contenido en carbono orgánico (K_{oc}) de los alperujos estuvieron de acuerdo con valores recabados de la bibliografía y revelaron que la eficiencia de la materia orgánica de las organoarcillas como adsorbente de los herbicidas puede llegar a ser varios órdenes de magnitud superior a la de la materia orgánica del alperujo. Para el caso de MCP y MCP-P, no se observó enantioselectividad en la adsorción para ninguno de los adsorbentes propuestos.
- 5.- La adsorción de los herbicidas fluometurón, MCP y MCP-P a cuatro suelos con diferentes características dependió de la naturaleza química del plaguicida (neutro o ácido) y del tipo del suelo, de modo que fluometurón se adsorbió más en los suelos con mayor contenido en arcilla y materia orgánica, mientras que MCP y MCP-P lo hicieron en muy baja proporción en todos los suelos debido a su carácter aniónico. Para todos los casos, la adición de las organoarcillas seleccionadas y alperujo aumentó la capacidad de adsorción de los suelos, en mayor o menor intensidad dependiendo de la naturaleza y dosis de enmienda, así como de las características del suelo al cual fue aplicada. En general, el rendimiento de las organoarcillas y alperujos como adsorbentes de los herbicidas en presencia de los suelos fue menor que en su ausencia, probablemente como consecuencia de fenómenos de competencia por los sitios de adsorción entre los herbicidas y los componentes solubles del suelo.
- 6.- La adición de organoarcillas y alperujo modificó el patrón de degradación de los herbicidas fluometurón, MCP y MCP-P en los suelos. En todos los casos el alperujo fresco aumentó la persistencia de los herbicidas, mientras

que el efecto de la adición de las organoarcillas dependió del mecanismo de adsorción organoarcilla-herbicida y su efecto en la disponibilidad del herbicida para ser degradado. En algunos casos, los alperujos afectaron de forma enantioselectiva la degradación de mecoprop en los suelos, revelando posibles efectos de la enmienda en poblaciones microbianas degradadoras específicas.

- 7.- Los estudios de lixiviación de los herbicidas fluometurón, MCPP y MCPP-P realizados en columnas de suelo en condiciones controladas en el laboratorio pusieron de manifiesto que, a través de la adición de organoarcillas y alperujo, es posible controlar la lixiviación de los herbicidas seleccionando adecuadamente el tipo y dosis de enmienda en función de las características del herbicida y del suelo considerado. En general, las organoarcillas fueron capaces de reducir la lixiviación de los herbicidas aplicadas a dosis muy inferiores a las de alperujo. Los perfiles de lixiviación de los herbicidas en los suelos enmendados estuvieron de acuerdo con los efectos de las enmiendas en los procesos de adsorción-desorción y degradativos.
- 8.- La adición del catión orgánico espermina a suelos con elevado contenido en esmectitas aumentó la adsorción del herbicida fluometurón, probablemente por la reacción de los cationes orgánicos con las esmectitas formándose “in situ” un complejo órgano-arcilloso con elevada afinidad por el herbicida. El aumento en la adsorción provocó un retraso en la lixiviación del herbicida en columnas de suelo y prolongó la persistencia de fluometurón en el suelo rico en esmectitas.
- 9.- Los bioensayos realizados en condiciones de laboratorio permitieron establecer dosis óptimas de enmienda para una adecuada eficacia biológica de los herbicidas en los suelos enmendados. También demostraron que en una situación de aporte de agua abundante poco después de la aplicación del herbicida, las enmiendas pueden ser útiles para reducir las pérdidas por

lixiviación del herbicida y aumentar su eficacia en comparación a la observada en suelos no enmendados.

- 10.- Los experimentos de campo llevados a cabo con fluometurón y terbutilazina para comprobar los beneficios de la adición de alperujo y organoarcilla a suelos agrícolas, en relación al comportamiento de herbicidas bajo condiciones reales, confirmaron que ambos tipos de enmienda pueden ser útiles con la finalidad de reducir las pérdidas por lixiviación de los herbicidas aplicados al suelo, prolongar el tiempo de residencia de los mismos en la zona radicular y, en consecuencia, aumentar su eficacia. En este sentido, las organoarcillas podrían aplicarse a dosis significativamente menores que el alperujo con un efecto similar. Además, el análisis de las aguas de escorrentía procedentes de parcelas tratadas y sin tratar con organoarcilla y alperujo reveló la capacidad del alperujo para reducir las pérdidas por escorrentía de los herbicidas aplicados, al contrario que la organoarcilla, que tuvo un efecto adverso potenciando el arrastre superficial. Este resultado sugiere que a la hora de emplear organoarcillas como enmiendas para modular el comportamiento de herbicidas en suelos agrícolas, podría ser recomendable el empleo de prácticas complementarias de control del arrastre superficial.

Como conclusión general podemos decir que las montmorillonitas modificadas con cationes orgánicos u organoarcillas, pueden ser útiles para ser usadas como enmiendas agrícolas para reducir la elevada movilidad de herbicidas utilizados en cultivos andaluces, pudiendo llegar a ser incluso más efectivas que enmiendas tradicionalmente utilizadas como son los residuos de almazara. Acompañadas de otras medidas para el control de la erosión, estos adsorbentes podrían contribuir a disminuir las pérdidas por transporte de los herbicidas aplicados a cultivos andaluces, lo que por una parte reduciría el riesgo de contaminación de las aguas y por otra permitiría disminuir las cantidades de materia activa necesarias para un control adecuado de malas hierbas.



VI. BIBLIOGRAFÍA

Aggelides, S.M., P.A. Londra. 2000. Effects of compost produced from town wastes and sewage sludge on the physical properties of a loamy and a clay soil. *Bioresour. Technol.* 71, 253-259.

Aichberger, H., A.P. Loibner, R. Celis, R. Braun, F. Ottner, H. Rost. 2006. Assessment of factors governing biodegradability of PAHs in three soils aged under field conditions. *Soil Sediment Contam.* 15:73-85

AEPLA. 2011. Asociación Empresarial para la protección de las plantas. AEPLA. Memoria Anual 2011. http://www.aepla.es/files/Memoria_AEPLA_2011.pdf

Aguer, J.P., M.C. Hermosín, M.J. Calderón, J. Cornejo. 2000. Fenuron sorption by homoionic natural and modified smectites. *J. Environ. Sci. Health.* B35, 279-296.

Aiken, G.R., D.M. McKnight, R.L. Wershaw. 1985. *Humic Substances in Soil, Sediments and Water*. Wiley Intersci. New York.

Albarrán, A., R. Celis, R., M.C. Hermosín, A. López-Piñeiro, J.J. Ortega-Calvo, J. Cornejo. 2003. Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* 19, 150- 156.

Albarrán, A., R. Celis, R., M.C. Hermosín, A. López-Piñeiro, J. Cornejo. 2004. Behaviour of simazine in soil amended with the final residue of the olive-oil extraction process. *Chemosphere.* 54, 717-724.

Albuquerque, J.A, J. González, D. García, J. Cegarra. 2004. Agrochemical characterisation of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour. Technol.* 91,195–200.

Albuquerque, J.A., J. González, D. García, J. Cegarra. 2006. Measuring detoxification and maturity in compost made from “alperujo”, the solid by-product of extracting olive oil by the two-phase centrifugation system. *Chemosphere* 64, 470–477.

Albuquerque, J.A., I. Bautista-Carrascosa, A. Lidón, R. García-de-la-Fuente, J. Girbent, M. Abad, J. Cegarra. 2009. Co-composting an animal fatty-proteinaceous

waste with a solid lignocellulosic by-product from the olive oil industry ('alperujo'). *J Chem. Technol. Biotechnol.* 84, 918–926.

Alexandre, M., P. Dubois. 2000. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. *Mat. Sci. Eng. R.* 28, 1–283.

Allen, R., A. Walker. 1987. The influence of soil properties on the rates of degradation of metamitron, metazachlor and metribuzin. *Pestic. Sci.* 18, 95-111.

Annabi, M., S. Houot, C. Francou, M. Poitrenaud, Y. Le Bissonnais. 2007. Soil Aggregate Stability Improvement with Urban Composts of Different Maturities. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 71,413-423.

Anselme, C., A. Bruchet, J. Mallevialle. 1992. Influence and Removal of Organics in Drinking Water. (J.P. Duquet y J. Mallevialle, Eds), Lewis Publishers, Chelsea.

Arienzo, M., M. Sánchez-Camazano, M.J. Sánchez-Martín, T. Crisanto. 1994. Influence of exogenous organic matter in the mobility of diazinon in soils. *Chemosphere.* 29, 1245-1252.

Armstrong, D.E., G. Chester, F. Harris. 1967. Atrazine hydrolysis in soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 31, 61-66.

Arnold, J.G., R. Srinivasan, R.S. Muttiah, J.R. Williams. 1998. Large area hydrologic modeling and assessment. I. Model development. *J. Am. Water Resour. Assoc.* 34, 73–89.

Aue, D.H., H.M. Webb, M.T. Bowers. 1976. A thermodynamic analysis of solvation effects on the basicities of alkylamines. An electrostatic analysis of substituent effects. *J. Am. Chem. Soc.* 98, 318-330.

Azbar, N., A. Bayram, A. Filibeli, A. Muezzinoglu, F. Sengul, A. Ozer. 2004. A review of waste management options in olive oil production. *Critical Rev. Environ. Sci. Technol.* 34, 209-247.

Bailey, G.W., J.L. White. 1970. Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soils. *Residue Review*. 32, 29-92.

Barceló, D., S. Chiron, A. Fernández-Alba, A. Valverde, M.F. Alpendurada. 1996. Monitoring pesticides and metabolites in surface waters and groundwaters in Spain. En: M.T. Meyer (Ed.). *Herbicides–Metabolites in Surface and Groundwater*. Am. Chem. Soc., Washington.

Barriuso, E., D.A. Laird, W.C. Koskinen, R.H. Dowdy. 1994. Atrazine desorption from smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1632-1638.

Barriuso, E., S. Houot, C. Serra-Wittling. 1997. Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pest. Sci.* 49, 65-75.

Barriuso, E., M.S. Andrades, P. Benoit, S. Houot. 2011. Pesticide desorption from soils facilitated by dissolved organic matter coming from composts: experimental data and modelling approach. *Biogeochemistry*. 106, 117–133.

Baughman, T.A., D.R. Shaw, E.P. Webster, M. Boyette. 2001. Effect of cotton (*Gossypium hirsutum*) tillage systems on off-site movement of fluometuron, norflurazon, and sediment in runoff. *Weed Technol.* 15, 184–189.

Beck, A.J., A.E.J. Johnston, K.C. Jones. 1993. Movement of nonionic organic chemicals in agricultural soils. *Critical Rev. Environ. Sci. Technol.* 23, 219-248.

Bergaya, F., G. Lagaly. 2006. General introduction: clays, clay minerals and clay science. En: *Handbook of Clay Science* (F. Bergaya, B.K.G. Theng & G. Lagaly, Eds.). Elsevier, Amsterdam. pp. 1-18.

Bergström, L. 1990. Leaching of chlorsulfuron and metsulfuron methyl in three Swedish soils measured in field lysimeters. *J. Environ. Qual.* 19, 701-706.

Bernard, H., P.F. Chabalier, J.L. Chopart, B. Legube, M. Vauclin. 2005. Assessment of Herbicide Leaching Risk in Two Tropical Soils of Reunion Island (France). *J. Environ. Qual.* 34, 534–543.

Boithias, L., S. Sauvagea, L. Taghavia, G. Merlinaa, J.L. Probst, J.M. Sánchez Pérez. 2011. Occurrence of metolachlor and trifluralin losses in the Save river agricultural catchment during floods. *J. Haz. Mat.* 196, 210–219.

Bonczek, J.L., W.G. Harris, P. Nkedi-Kizza. 2002. Monolayer to bilayer transitional arrangements of hexadecyltrimethylammonium cations on Na-montmorillonite. *Clays Clay Min.* 50, 11-17.

Borja, R., B. Rincón, F. Raposo. 2006. Review anaerobic biodegradation of two-phase olive mill solid wastes and liquid effluents: kinetic studies and process performance. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 81, 1450-1462.

Bouchard, D.C., T.L. Lavy, D.B. Marx. 1982. Fate of metribuzin, metolachlor, and fluometuron in soil. *Weed Sci.* 30, 629-632.

Bowman, B.T. 1989. Mobility and persistence of the herbicides atrazine, metolachlor y terbuthylazine in plainfield sand determined using field lysimeters. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 485-491.

Boyd, S.A., J.F. Lee, M.M. Mortland. 1988. Attenuating organic contaminant mobility by soil modification. *Nature.* 33, 345-347.

Boyd, S.A., W.F. Jaynes, B.S. Ross. 1991. Immobilization of organic contaminants by organoclay: Application to soil restoration and hazardous waste contaminants. En: *Organic Substances and Sediments in Water*. (R.A. Baker, Ed.), vol 1, pp. 181-200. Lewis, Chelsea, MI.

Boyd, S.A., C.T. Johnston, D.A. Laird, B.J. Teppen, H. Li. 2011. Comprehensive study of organic contaminant adsorption by clays: methodologies, mechanisms, and environmental implications. En: *Biophysico- Chemical Processes of Anthropogenic Organic Compounds in Environmental Systems* (B. Xing, N. Senesi, P.M. Huang, Eds.), New York: John Wiley & Sons, Inc. pp. 51–71.

Bozarth, G.A., H.H. Jr. Funderburk. 1971. Degradation of fluometuron in sandy loam soil. *Weed Sci.* 19, 691–695.

Breen, C. 1999. The characterisation and use of polycation-exchanged bentonite. *Appl. Clay Sci.* 15, 187-219.

Brenes, M., A.García, P. García, J.J. Ríos, A. Garrido. 1999. Phenolic Compounds in Spanish Olive Oils. *J. Agric. Food Chem.* 47, 3535-3540.

Brixie, J.M., S.A. Boyd. 1994. Treatment of contaminated soils with organoclays to reduce leachable pentachlorophenol. *J. Environ. Qual.* 23, 1283-1290.

Brown, G. 1961. The X-Ray identification and crystal structures of clay minerals. Mineralogical Society, London.

Brown, G., P. Nadeau. 1984. Crystal structure of clay minerals and related phyllosilicates. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences. *The Royal Society.* 311, 221-240.

Brown, B.A., R.M. Hayes, D.D. Tyler, T.C. Mueller. 1994. Effect of tillage and cover crop on fluometuron adsorption and degradation under controlled conditions. *Weed Sci.* 42, 629-634.

Brunetti, G, C. Plaza, N. Senesi. 2005. Olive pomace amendment in Mediterranean conditions: effect on soil and humic acid properties and wheat (*Triticum turgidum* L.) yield. *J. Agr. Food Chem.* 53, 6730–6737.

Burris, D.R., C.P. Antworth. 1992. In situ modification of aquifer material by cationic surfactant to enhance retardation of organic contaminants. *J. Contam. Hydrol.* 10, 325-337.

Businelli, D. 1997. Pig slurry amendment and herbicide coapplication effects on s-triazine mobility in soil: An adsorption-desorption study. *J. Environ. Qual.* 26, 102-108.

Buss, S.R., J. Thrasher, P. Morgan, J.W.N. Smith. 2006. A review of mecoprop attenuation in the subsurface. *Q. J. Eng. Geol. Hydroge.* 39, 283–292.

Cabrera, A., L. Cox, P. Velarde, W.C. Koskinen, J. Cornejo. 2007. Fate of diuron and terbuthylazine in soils amended with two-phase olive oil mill waste. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4828-4834.

Cabrera, A., L. Cox, P. Velarde, J. Cornejo. 2008a. Terbutylazine persistence in an organic amended soil. *J. Environ. Sci. Health Part B*. 43, 713-716.

Cabrera, A., L. Cox, W.C. Koskinen, M.J. Sadowsky. 2008b. Availability of triazine herbicides in aged soils amended with olive oil mill waste. *J. Agric. Food Chem.* 56, 4221-4119.

Cabrera, A., L. Cox, A. Fernández-Hernández, C. García-Ortiz Civantos, J. Cornejo. 2009. Field appraisalment of olive mills solid waste application in olive crops: Effect on herbicide retention. *Agric. Ecosyst. Environ.* 132, 260–266.

Cabrera, A., L. Cox, K.A. Spokas, R. Celis, M.C. Hermosín, J. Cornejo, W.C. Koskinen. 2011. Comparative Sorption and Leaching Study of the Herbicides Fluometuron and 4-Chloro-2-methylphenoxyacetic Acid (MCPA) in a Soil Amended with Biochars and Other Sorbents. *J. Agric. Food Chem.* 59, 12550–12560.

Cabrera, A., C. Trigo, L. Cox, R. Celis, M.C. Hermosín, J. Cornejo, W.C. Koskinen. 2011. Sorption of the herbicide aminocyclopyrachlor by cation-modified clay minerals. *Europ. J. Soil Sci.* (En prensa).

Calvaruso, C., L. Mareschal, M.P. Turpault, E. Leclerc. 2009. Rapid clay weathering in the rhizosphere of Norway spruce and oak in an acid forest ecosystem. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 73, 331-338.

Calvet, R. 1989. Adsorption of organic chemicals in soils. *Environ. Health Perspec.* 83, 145-177.

Camacho-Muñoz, D., J. Martín, J.L Santos., I. Aparicio, E. Alonso. 2009. An affordable method for the simultaneous determination of the most studied pharmaceutical compounds as wastewater and surface water pollutants. *J. Sep. Sci.* 32, 3064-3073.

CAP. 2008. Consejería de Agricultura y Pesca. Memoria Anual, 2008. http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/portal/export/sites/default/comun/galerias/galeriaDescargas/cap/servicio-estadisticas/Estudios-e-informes/Memorias-y-Balances/Memorias/Memoria_2008.pdf

CAP. 2009a. Consejería de Agricultura y Pesca. Secretaría General del Medio Rural y la Producción Ecológica. Sector Agrario Andaluz. 2009.

CAP. 2009b. Consejería de Agricultura y Pesca. Anuario de Estadística Agrarias y Pesqueras. 2009.

CAP. 2011. Consejería de Agricultura y Pesca. Avances de superficies y producciones.

<http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/portal/servicios/estadisticas/estadisticas/agrarias/superficies-y-producciones.html>

Capasso, R., A. Evidente, L. Schivo, G. Orru, M.A. Marcialis, G. Cristinzio. 1995. Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. *J Appl. Bacteriol.* 79,393–398.

Carabias-Martínez, R., E. Rodríguez-Gonzalo, M.E. Fernández-Laespada, L. Calvo-Seronero, F.J. Sánchez-San Román. 2003. Evolution over time of the agricultural pollution of waters in an area of Salamanca and Zamora (Spain). *Water Res.* 37, 928-938.

Carsel, R.F., C.W. Smith, L.A. Mulkey, J.D. Dean, P. Jowsie. 1984. Pesticide Root Zone Model (PRZM): Release 1. EPA-600/ 3-84-109. USEPA, Athens, GA.

Carr, M.E., R.E. Wing, W.N. Doane. 1994. Clay as a carrier in starch encapsulated herbicides prepared by extrusion processing. *Starch/Staerke.* 46, 9-13.

Carretero, M.I., M. Pozo. 2007. Mineralogía Aplicada. Salud y Medio Ambiente. Madrid, España.

Carrizosa, M.J., M.J. Calderón, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2000. Organosmectites as sorbent and carrier of the herbicide bentazone. *Sci. Total Environ.* 247, 285-293.

Carrizosa, M.J., W.C. Koskinen, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2001. Dicamba adsorption-desorption on organoclays. *Appl. Clay Sci.* 18, 223-231.

Carrizosa, M.J., M.C. Hermosín, W.C. Koskinen, J. Cornejo. 2003. Use of organosmectites to reduce leaching losses of acidic herbicides. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 511-517.

Cayuela, M.L., P.D. Millner, S.L. Meyer, A. Roig. 2008. Potential of olive mill waste and compost as biobased pesticides against weeds, fungi, and nematodes. *Sci Total Environ.* 399,11–18.

Celis, R., L. Cox, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 1996. Retention of metamilon by model and natural particulate matter. *J. Environ. Anal. Chem.* 65, 245-260.

Celis, R., L. Cox, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 1997a. Sorption of thiazafuron on iron- and humic acid-coated montmorillonite. *J. Environ. Qual.* 26, 472–479.

Celis, R., M.C. Hermosín, J. Cornejo, W.C. Koskinen. 1997b. Sorption-desorption of atrazine and simazine by model soil colloidal components. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 436-443.

Celis, R., E. Barriuso, S. Houot. 1998a. Sorption and desorption of atrazine by sludge-amended soil: dissolved organic matter effects. *J Environ Qual.* 27, 1348–1356.

Celis, R., E. Barriuso, S. Houot. 1998b. Effect of liquid sewage sludge addition on atrazine sorption and desorption by soil. *Chemosphere.* 37,1091–1107

Celis, R., W.C. Koskinen, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 1999a. Sorption and desorption of triadimefon by soils and model soil colloids. *J. Agric. Food Chem.* 47, 776-781.

Celis, R., M.C. Hermosín, L. Cox, J. Cornejo. 1999b. Sorption of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid by model particles simulating naturally occurring soil colloids. *Environ. Sci. Technol.* 33, 1200-1206.

Celis, R., W.C. Koskinen, A.M. Cecchi, G.A. Bresnahan, M.J. Carrizosa, M.A. Ulibarri, I. Pavlovic, M.C. Hermosín. 1999c. Sorption of the ionisable pesticide imazamox by organoclays and organohydrotalcites. *J. Environ. Sci. Health B.* 34, 929-941.

Celis, R., W.C. Koskinen. 1999. An isotopic exchange method for the characterization of their reversibility of pesticide sorption-desorption in soil. *J. Agric. Food Chem.* 47, 782-790.

Celis, R., W.C. Koskinen, M.C. Hermosín, M.A. Ulibarri, J. Cornejo. 2000. Triadimefon interactions with organoclays and organohydrotalcites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 36-43.

Celis, R., M.C. Hermosín, M.J. Carrizosa, J. Cornejo. 2002a. Inorganic and organic clays as carriers for controlled release of the herbicide hexazinone. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2324- 2330.

Celis, R., M.C. Hermosín, L. Cornejo, M.J. Carrizosa, J. Cornejo. 2002b. Clay-herbicide complexes to retard picloram leaching in soil. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 82, 503-517.

Celis, R., M. Real, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2005. Sorption and leaching behaviour of polar aromatic acids in agricultural soils by batch and column leaching tests. *Eur. J. Soil Sci.* 56, 287-297.

Celis, R., H. De Jonge, L.W. De Jonge, M. Real, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2006. The role of mineral and organic components in phenanthrene and dibenzofuran sorption by soil. *Eur. J Soil Sci.* 57, 308-319.

Celis, R., C. Trigo, G. Facenda, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2007. Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves. *J. Agric. Food Chem.* 55, 6650-6658.

Celis, R., M.A. Adelino, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2012. Montmorillonite-chitosan bionanocomposites as adsorbents of the herbicide clopyralid in aqueous solution and soil/water suspensions. *J. Hazard. Mater.* 209-210, 67-76.

Cerezo, P., A. Aguzzi, C. Viseras, A. Cerezo. 2003. Efecto de la temperatura en el espaciado d001 de la sepiolita y en la pérdida de peso. VI Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica (SEFIG). 3ª Jornadas de Tecnología Farmacéutica (AEFI). Libro de comunicaciones. Granada, Ed. Comares, S.L.

Che, M., M.M. Loux, S.J. Traina, T.J. Logan. 1992. Effect of pH on sorption and desorption of imazaquin and imazethapyr on clays and humic acid. *J. Environ. Qual.* 21, 698-703.

Chefetz, B., B. Xing. 2009. Relative role of aliphatic and aromatic moieties as sorption domains for organic compounds: a review. *Environ Sci Technol.* 43, 1680–1688.

Cheng, H.H., R.G. Lehmann. 1985. Characterization of herbicide degradation under field conditions. *Weed Sci.* 33, 7-10.

Cheng, H.H., W.C. Koskinen. 1986. Processes and factors affecting transport of pesticides to ground water. *ACS Symposium Series.* 315, 2-13.

Chiou, C.T., L.J. Peters, V. H. Freed, 1979. A physical concept of soil-water equilibria for nonionic organic compounds. *Science.* 206, 831–832.

Chiou, C.T. 2002. Roles of organic matter, minerals, and moisture in sorption of nonionic compounds and pesticides by soil. En: Humic substances in soil and crop sciences: selected readings (P. McCarthy, Ed), American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI. pp. 111-160.

Chiou, C.T., D.E. Kile. 1994. Effects of polar and nonpolar groups on the solubility of organic compounds in soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 28, 1139-1144.

Chiou, C.T. 2002. Partition and adsorption of organic contaminants in environmental systems. New York: John Wiley & Sons.

Chipera, S.J., D.L. Bish. 2001. Baseline studies of The Clay Minerals Society Source Clays: powder X-ray diffraction analyses. *Clays Clay Miner.* 49, 398-409.

Chung, N., M. Alexander. 1999. Relationship between nanoporosity and other properties of soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 164, 726–730.

Chun, Y., G.Y. Sheng, S.A. Boyd. 2003. Sorptive characteristics of tetraalkylammonium-exchanged smectite clays. *Clays Clay Miner.* 51, 415– 420.

Clausen, L., I. Fabricius, L. Madsen. 2001. Adsorption of pesticides onto quartz, calcite, kaolinite, and α -alumina. *J. Environ. Qual.* 30, 846-857.

Cornejo, J., M.C. Hermosín, J.L. White, J.R. Barnes, S.L. Hem. 1983. Role of ferric iron in oxidation of hydrocortisone by sepiolite and palygorskite. *Clays Clay Min.* 31, 109-112.

Cornejo, J., M.C. Hermosín. 1996. Interaction of humic substances and soil clays. En: *Humic Substances in Terrestrial Ecosystem* (A. Piccolo Ed.), Elsevier. Amsterdam, pp. 507-624.

Cornejo, J., P. Jamet. 2000. *Pesticide/Soil Interactions: Some Current Research Methods*. INRA Editions, Paris.

Cornejo, J., R. Celis, L. Cox, M.C. Hermosín. 2004. Pesticide-clay interactions and formulations. En: *Clay Surfaces: Fundamentals and Applications* (F. Wypych y K.G. Satyanarayana, Eds), Elsevier. Amsterdam, pp. 247-266.

Cornejo, J., M.C. Hermosín, R. Celis, L. Cox. 2005. Methods to determine sorption of pesticides and other organic compounds. En: *Soil-Water-Solute Process Characterization: An Integrated Approach* (J. Álvarez Benedi, R. Muñoz Carpena Eds), pp. 435-463. CRC Press-Taylor & Francis Group.

Cornejo, J., R. Celis, I. Pavlovic, M.A. Ulibarri. 2008a. Interactions of pesticides with clays and layered double hydroxides: a review. *Clay Miner.* 43, 155-175.

Cornejo, L., R. Celis, C. Domínguez, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2008b. Use of modified montmorillonites to reduce herbicide leaching in sports turf surfaces: laboratory and field experiments. *Appl. Clay Sci.* 42, 284-291.

Cox, L., R. Celis, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 1994. Leaching patterns of pesticides as related to sorption and porosity properties of soils. En: *Proceedings of the BCPC Conference on Pests and Diseases*, Vol. 3, BCPC, Brighton, U.K., pp. 1325-1330.

Cox, L., M.C. Hermosín, J. Cornejo. 1995. Adsorption and Desorption of the Herbicide Thiazafluron As A Function of Soil Properties. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 58, 305-314.

Cox, L., A. Walker, S.J. Welch. 1996. Evidence for accelerated degradation of isoproturon in soils. *Pestic. Sci.* 48, 253-260.

Cox, L., M.C. Hermosín, R. Celis, J. Cornejo. 1997a. Sorption of two polar herbicides in soils and soil clays suspensions. *Water Res.* 31, 1309-1316.

Cox, L., R. Celis, M.C. Hermosín, A. Becker, J. Cornejo. 1997b. Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agriculture, Ecosystems Environ.* 65, 151-161.

Cox, L., W.C. Koskinen; P.Y. Yen. 1997c. Sorption-desorption of imidacloprid and its metabolites in soils. *J. Agric. Food. Chem.* 45, 1468-1472.

Cox, L., W.C. Koskinen, P.Y. Yen. 1998. Changes in sorption of Imidacloprid with incubation time. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62, 342-347.

Cox, L., M.J. Calderón, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 1999a. Leaching of clopyralid and metamitron under conventional and reduced tillage systems. *J. Environ. Qual.* 28, 605-610.

Cox, L., M.C. Hermosín, J. Cornejo. 1999b. Leaching of simazine in organic amended soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 30, 1697-1706.

Cox, L., R. Celis, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2000a. Natural soil colloids to retard simazine and 2,4-D leaching in soil. *J. Agric. Food Chem.* 48, 93-99.

Cox, L., R. Celis, M.C. Hermosín, J. Cornejo, A. Zsolnay, K. Zeller. 2000b. Effect of organic amendments on herbicide sorption as related to nature of the dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 34, 4600-4605.

Cox, L., A. Cecchi, R. Celis, M.C. Hermosín, W.C. Koskinen, J. Cornejo. 2001. Effect of exogenous carbon on movement of simazine and 2,4-D in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 1688-1695.

Cox, L., M.C. Fernandes, A. Zsolnay, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2004. Changes in Dissolved Organic Carbon of Soil Amendments with Aging: Effect on Pesticide Adsorption Behavior. *J. Agric. Food Chem.* 52, 5635-5642.

Cox, L., P. Velarde, A. Cabrera, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2007. Dissolved organic carbon interactions with sorption and leaching of diuron in organic amended soils. *Eur. J Soil Sci.* 58, 714-721.

Cruz-Guzmán, M., R. Celis, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2004. Adsorption of the herbicide simazine by montmorillonite modified with natural organic cations. *Environ. Sci. Technol.* 38, 180-186.

Cruz-Guzmán, M., R. Celis, M.C. Hermosín, W.C. Koskinen, J. Cornejo. 2005. Adsorption of pesticides from water by functionalized organobentonites. *J. Agric. Food Chem.* 53, 7502-7511.

Cuevas, M.V., L. Cox, M.J. Calderón, M.C. Hermosín, J.E. Fernández. 2008. Chloridazon and lenacil dissipation in a clayey soil of the Guadalquivir river marshes (southwest Spain). *Agric. Ecosyst. Environ.* 124, 245-251.

Darder, M., M. Colilla, E. Ruiz-Hitzky. 2003. Biopolymer-clay nanocomposites based on chitosan intercalated in montmorillonite. *Chem. Mater.* 15, 3774-3780.

Davis, F.M., R.A. Leonard, W.G. Knisel. 1990. Groundwater Loading effects of agricultural management systems (GLEAMS). User manual. USDA-ARS Southeast Watershed Res. Lab. Univ. of Georgia, Tifton, GA.

Day, B.E., L.S. Jordan, V.A. Jolliffe. 1968. The influence of soil characteristics on the adsorption and phytotoxicity of simazine. *Weed Sci.* 1, 209-213.

De Jonge, H., L.W. De Jonge, O.H. Jacobsen. 2000. [C-14] glyphosate transport in undisturbed topsoil columns. *Pest Manag. Sci.* 56, 909-915.

De Paiva, L.B., A.R. Morales, F.R. Valenzuela Díaz. 2008. Organoclays: Properties, preparation and applications. *Appl. Clay Sci.* 42, 8-24.

VI. Bibliografía

Delgado-Moreno, L., A. Peña. 2007. Organic amendments from olive cake as a strategy to modify the degradation of sulfonylurea herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.* 55, 6213-6218.

Delgado-Moreno, L., G. Almendros, A. Peña. 2007a. Raw or incubated olivemill wastes and its biotransformed products as agricultural soil amendments - Effect on sorption-desorption of triazine herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 55, 836-843.

Delgado-Moreno, L., L. Sánchez-Moreno, A. Peña. 2007b. Assessment of olive cake as soil amendment for the controlled release of triazine herbicides. *Sci. Total Environ.* 378, 119-123.

Dolaptsoglou, C., D.G. Karpouzas, U. Menkissoglu-Spiroudi, I. Eleftherohorinos, E.A. Voudrias. 2010. Influence of different organic amendments on the leaching and dissipation of terbuthylazine in a column and a field study. *J. Environ. Qual.* 38, 782-791.

Donigian, A.S., N.H. Crawford. 1976. Modeling Pesticides and Nutrients on Agricultural Lands, Environmental Protection Agency, Washington, DC.

Dubus, I.G., E. Barriuso, R. Calvet. 2001. Sorption of weak organic acids in soils: clofencet, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere.* 45, 767-774.

El-Nahhal, Y., S. Nir, T. Polubesova, L. Margulies, B. Rubin. 1998. Leaching, phytotoxicity, and weed control of new formulations of alachlor. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3305-3313.

El-Nahhal, Y., S. Nir, C. Serban, O. Rabinovitch, B. Rubin. 2000. Montmorillonite-phenyltrimethyl ammonium yields environmentally improved formulations of hydrophobic herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4791-4801.

El-Nahhal, Y., S. Nir, C. Serban, O. Rabinovitz, B. Rubin. 2001. Organo-clay formulation of acetochlor for reduced movement in soil. *J. Agric. Food Chem.* 49, 5364-5371.

Ezzaim, A., M.P. Turpault, J. Ranger. 1999. Quantification of weathering processes in an acid brown soil developed from tuff (Beaujolais, France). Part II. Soil formation. *Geoderma* 87, 155-177.

Fernandes, M.C., L. Cox, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2003. Adsorption-desorption of metalaxyl as affecting dissipation and leaching in soils: role of mineral and organic components. *Pest. Manag. Sci.* 59, 545-552.

Fernandes, M.C., L. Cox, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2006. Organic amendments affecting sorption, leaching and dissipation of fungicides in soils. *Pest Manag. Sci.* 62, 1207-1215.

Fernández-Pérez, M., E. González-Pradas, M.D. Ureña-Amate, R.M. Wilkins, I. Lindrup. 1998. Controlled release of imidacloprid from a lignin matrix. Water release kinetics and soil mobility study. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3828-3834.

Ferreira, J.A., L. Martin-Neto, C.M.P. Vaz, J.B. Regitano. 2002. Sorption interactions between imazaquin and a humic acid extracted from a typical Brazilian Oxisol. *J. Environ. Qual.* 31, 1665-1670.

Filius, J.D., T. Hiemstra, W.H. Vanriemsdijk. 1997. Adsorption of small weak organic acids on goethite-modeling of mechanisms. *J. Colloid Interface Sci.* 195, 368-380.

Flores-Céspedes, F., E. González-Pradas, M. Fernández-Pérez, M. Villafranca-Sánchez. 2002. Effects of dissolved organic carbon on sorption and mobility of imidacloprid in soil. *J. Environ. Qual.* 31, 880-888.

Flury, M. 1996. Experimental evidence of transport of pesticides through field soils: A review. *J. Environ. Qual.* 25, 25-45.

Fogg, P., A.B.A. Boxall, A. Walker, A.A. Jukes. 2003. Pesticide degradation in a "biobed" composting substrate. *Pest Manag. Sci.* 59, 527-537.

Galán, E., J. Espinosa. 1974. El caolín en España: características, identificación y ensayos cerámicos. Sociedad Española de Cerámica y Vidrio, Madrid.

Garrido, T., J. Fraile, J.M. Ninerola, M. Figueras, A. Ginebreda, L. Olivella. 2000. Survey of ground water pesticide pollution in rural areas of Catalonia (Spain). *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 78, 51-65.

Ganigar, R., G. Rytwo, Y. Gonen, A. Radian, Y.G. Mishael. 2010. Polymer-clay nanocomposites for the removal of trichlorophenol and trinitrophenol from water, *Appl. Clay Sci.* 49, 311-316.

Gautier, M., F. Muller, L. Le Forestier, J.M. Beny, R. Guegan. 2010. NH₄-smectite: Characterization, hydration properties and hydro mechanical behaviour. *Appl. Clay Sci.* 49, 247-254.

Gee, G.W., J.W. Bauder 1982. Particle size analysis. En: *Methods of Soil Analysis, Part 1*, 2nd Ed. (A. Klute, Ed), American Society of Agronomy Madison, WI. pp: 383-412.

Gerstl, Z., A. Nasser, U. Mingelgrin. 1998a. Controlled release of pesticides in soils from claypolymer formulations. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3797-3802.

Gerstl, Z., A. Nasser, U. Mingelgrin. 1998b. Controlled release of pesticides into water from clay-polymer formulations. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3803-3809.

Giles, C.H., T.H. MacEwan, S.N. Nakhwa, D. Smith. 1960. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanism in measurement of specific surface area in solids. *J. Chem. Soc. London* 3, 3973-3993.

Gish, T.J., M.J. Schoppet, C.S. Helling, A. Schirmohammadi, M.M. Schnecher, R.E. Wing. 1991. Transport comparison of technical grade and starch-encapsulated atrazine. *Trans. ASAE.* 34, 1738.

Glotfelty, D.E., J.M. Caro. 1975. Introduction, transport and fate of persistent pesticides in the atmosphere. *Am. Chem. Soil Symp. Ser. No 17: Removal of Trace Contaminants from Air*, pp. 42-62.

González, M, M.D. Mingorance, L. Sánchez, A. Peña. 2008. Pesticide adsorption on a calcareous soil modified with sewage sludge and quaternary alkyl-ammonium cationic surfactants. *Env. Sci. Pollut. Res.* 15, 8-14.

González-Pradas, E., M. Fernández-Pérez, M. Villafranca-Sánchez, F. Martínez-López, F. Flores-Céspedes. 1999. Use of bentonite and humic acid as modifying agents in alginate-based controlled-release formulations of imidacloprid. *Pest. Sci.* 55, 546-552.

Gramatica, P., A. Di Guardo. 2002. Screening of pesticides for environmental partitioning tendency. *Chemosphere*. 47, 947-956.

Grann, V.R., K. Homewood, W. Golden. 1972. Polybrene neutralization as a rapid means of monitoring blood heparin levels. *Am. J. Clin. Pathol.* 58, 26.

Green, R.E., V.K. Yamame. 1970. Precision in pesticide adsorption measurements. *Soil Sci. Soc. Am Proc.* 34, 353-355.

Green, R.E., S.W. Karickhoff. 1990. Sorption estimates for modeling. En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling*. (H.H. Cheng Ed), SSSA Book Series 2, Madison, WI. pp. 79-101.

Greendland, D.J. 1965. Interaction between clays and organic compounds in soils. Part 1. Mechanisms of interaction between clays and defined organic compounds. *Soil and Fertilizers* 28, 415-420.

Groisman, L., C. Rav-Acha, Z. Gerstl, U. Mingelgrin. 2004. Sorption of organic compounds of varying hydrophobicities from water and industrial wastewater by long- and short-chain organoclays. *Appl. Clay Sci.* 24, 159-166.

Gu, B., J. Schmitt, Z. Chen, L. Liang, J.F. McCarthy. 1994. Adsorption and desorption of natural organic matter on iron oxide: Mechanisms and models. *Environ.Sci. Technol.* 28, 38-46.

Guggenheim, S., R.T. Martin. 1995. Definition of clay and clay mineral: joint report of the aipea and cms nomenclature committees. *Clay Minerals* 30, 257-259.

Guo, L., T.J. Bicki, A.S. Felsot, T.D. Hinesly. 1993. Sorption and movement of alachlor in soil modified carbo-rich wastes. *J. Environ. Qual.* 22, 186-194.

Gustafson, D.I. 1989. Groundwater ubiquity score: A simple method for assessing pesticide leachability. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 4, 339-357.

Haberhauer, G., L. Pfeiffer, M.H. Gerzabek. 2000. Influence of Molecular Structure on Sorption of Phenoxyalkanoic Herbicides on Soil and Its Particle Size Fractions. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3722-3727.

Haberhauer, G., L. Pfeiffer, M.H. Gerzabek, H. Kirchmann, A.J.A. Aquino, D. Tunega, H. Lischka. 2001. Response of sorption processes of MCPA to the amount and origin of organic matter in a long-term field experiment. *Eur. J. Soil Sci.* 52, 279-286.

Haddadin, M.S., S.M. Abdulrahim, G.Y. Al-Khawaldeh, R.K. Robinson. 1999. Solid state fermentation of waste pomace from olive processing. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 74, 613-618.

Halladja, S., A. Halle, J. Pilichowski, A. Boulkamh, C. Richard. 2009. Fulvic acid-mediated phototransformation of mecoprop. A pH-dependent reaction. *Photochem. Photobiol. Sci.* 8, 1066–1071.

Hamaker, J.W., J.M. Thompson. 1972. Adsorption. En: Organic Chemicals in the soil environment (C.A.I. Goring y J.W. Hamaker, Eds). Vol.1. Marcel Dekker Inc., Ny, pp. 49-144.

Han, X., A.C. Scott, P.M. Fedorak, M. Bataineh, J. W. Martin. 2008. Influence of molecular structure on the biodegradability of naphthenic acids. *Environ. Sci. Technol.* 42, 1290-1295.

Hance, R.J. 1967. The speed of attainment of sorption equilibria in some systems involving herbicides. *Weed Res.* 7, 29-36.

Helweg, A. 1993. Degradation and adsorption of ^{14}C -mecoprop (MCP) in surface soil and subsoil. Influence of temperature, moisture content, sterilization and concentration on degradation. *Sci. Total Environ.* 132, 229-241.

Hermosín, M.C., J. Cornejo. 1987. Adsorption and desorption of maleic hydrazide as a function of soil properties. *Soil Sci.* 44, 250-256.

Hermosín, M.C., J. Cornejo. 1992. Removing 2,4-D from water by organo-clays. *Chemosphere*. 24, 1493-1503.

Hermosín, M.C., J. Cornejo. 1993. Binding mechanism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by organoclays. *J. Environ. Qual.* 22, 325-331.

Hermosín, M.C., J. Cornejo, L. Cox. 2000. Calculation and validation of K_{clay} as predictor for polar or ionic pesticide adsorption by soils. En: *Pesticide/Soil Interactions: Some Current Research Methods* (J. Cornejo y P. Jamet, Eds), INRA, Paris. pp. 131-140.

Hermosín, M.C., R. Celis, G. Facenda, M.J. Carrizosa., J.J. Ortega-Calvo, J. Cornejo. 2006. Bioavailability of the herbicide 2,4-D formulated with organoclays. *Soil Bio. Biochem.* 38, 8, 2117-2124.

Hermosín, M.C., A. Rodríguez-Lizana, J. Cornejo, R. Ordóñez-Fernández. 2009. Efecto del uso de agroquímicos en olivar sobre la calidad de las aguas. En: *Sostenibilidad de la Producción de Olivar en Andalucía*. (J.A. Gómez-Calero, Ed) Junta de Andalucía, Sevilla. pp. 87-108.

Heron, G., T.H. Christensen. 1992. Degradation of the herbicide mecoprop in an aerobic aquifer determined by laboratory batch studies. *Chemosphere*. 24, 5, 547-557.

Hildebrandt, A., M. Guillamón, S. Lacorte, R. Tauler, D. Barceló. 2008. Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and ground water quality (North Spain). *Water Res.* 42, 3315-3326.

Hiller, E., Z. Krascenits, S. Cernansky. 2008. Sorption of acetochlor, atrazine, 2,4-D, chlorotoluron, MCPA, and trifluralin in six soils from Slovakia. *Bull. Environ. Contamination Toxicol.* 80, 412-416.

Hingston, F.J., A.M. Posner, J.P. Quirk. 1972. Anion adsorption by goethite and gibbsite. The role of the proton in determining adsorption envelopes. *J. Soil. Sci.* 23, 177-192.

Horspool, W.M. 1970. *Aspects of Organic Photochemistry*. Ed. Academic Press. Londres.

Hutson, J.L., and R.J. Wagenet. 1992. LEACHP: A process-based model of water and solute movement, transformations, plant up take and chemical reactions in the unsaturated zone. Res. Ser. 92-3. Dep. of Soil, Crop and Atmos. Sci., Cornell University, Ithaca, NY.

Illes, E., E. Tombacz. 2004. The role of variable surface charge and surface complexation in the adsorption of humic acid on magnetite. *Col. Surf. A. Physicochem. Eng. Aspects*. 230, 99–109.

Jackson, M.L. 1975. Soil chemical analysis. 2nd edition. University of Wisconsin, Madison, WI.

Jacobsen, O.S., W. Brusch, T. Laier, S.U. Hansen, N.H. Spliid, A. Helweg. 1999. Transport and dating of pesticide residues from a 40 year old point source. En: Human and Environmental Exposure to Xenobiotics (A.A.M. Del Re, C. Brown, E. Capri, G. Errera, M. Trevisan, Eds), La Goliardica Pavese, Pavia. pp. 355– 362.

Jaynes, W.F., S.A. Boyd. 1990. Trimethylphenylammonium-smectite as an effective adsorbent of water soluble aromatic hydrocarbons. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 40, 1649-1653.

Jaynes, W.F., S.A. Boyd. 1991a. Hydrophobicity of siloxane surfaces in smectites as revealed by aromatic hydrocarbon adsorption from water. *Clays Clay Miner.* 39, 428-436.

Jaynes, W.F., S.A. Boyd. 1991b. Clay minerals type and organic compound sorption by hexadecyltrimethylammonium exchanged clays. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55, 43-48.

Jaynes, W.F., G.F. Vance. 1996. BTEX sorption by organoclays: cosorptive enhancement and equivalence of interlayer complexes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60, 1742-1749.

Johnson, R.M., A.B. Pepperman. 1998. Release of atrazine and alachlor from clay-oxamide controlled release formulations. *Pest. Sci.* 53, 233-240.

Johnson, A.C., C. White, C. Lal Bhardwaj, A. Dixon. 2003. The ability of indigenous micro-organisms to degrade isoproturon, atrazine and mecoprop within aerobic UK aquifer systems. *Pest Manag Sci.* 59, 1291–1302.

Johnston, C.T., E. Tombácz, 2002. Surface chemistry of soil minerals. En: *Soil Mineralogy with Environmental Applications* (J.B. Dixon y D.G. Schulze, Eds), SSSA, Madison, Wisconsin. pp. 37-67.

Johnston, C.T. 2010. Probing the nanoscale architecture of clay minerals. *Clay Miner.* 45, 245-279.

Jordan, J.W., 1949. Organophilic bentonites. I. Swelling in organic liquids. *J. Phys. Chem.* 53, 294-306.

Junta de Andalucía, 2003. El Olivar Andaluz, Consejería de Agricultura y Pesca, Sevilla.

Jurado, F., A. Cano, J. Carpio. 2003. Modelling of combined cycle power plants using biomass. *Renewable Energy.* 28, 743-753.

Kahle, M., M. Kleber, and R. Jahn. 2002. Review of XRD-based quantitative analyses of clay minerals in soils: the suitability of mineral intensity factors. *Geoderma*, 109:191-205.

Karathanasis, A.D., A.D.F. Adams, B.F. Hajek. 1983. Stability relationships in kaolinite, gibbsite and Al-hydroxy interlayered vermiculite soil systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 3, 1247-1251.

Karickhoff, S.W., D.S. Brown, T.A. Scott, 1979. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Resour. Res.* 13, 241–248.

Karickhoff, S.W. 1980. Sorption kinetics of hydrophobic pollutants in natural sediments. En: *Contaminants and Sediments*, Vol. 2. (R.A. Baker, Ed), Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Mich. pp. 193–205.

Kearney, P.C., D.R. Shelton, W.C. Koskinen. 1997. Soil chemistry of pesticides. En: Encyclopedia of Chemical Technology, 4^a Edición, Vol. 22, (M. Howe-Grant Ed.), New York. John Wiley & Sons. pp. 419-451.

Khan, S.A. 1980. Physicochemical processes affecting pesticides in soil. En: Pesticides in the Soil Environment. (R.J. Wakeman, Ed), Elsevier. Amsterdam, pp. 29-118.

Klute, A. 1986. Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods. 2nd edition. SSSA Book Series N° 5, Madison, WI.

Knisel, W.G. 1980. CREAMS: A Field-scale Model for Chemicals, Runoff and Erosion from Agricultural Management Systems, Report, U.S. Department of Agriculture, Washington, DC.

Kobek, I. 2004. Setting up a network of technology dissemination centres to optimise SMEs in the olive and olive oil sector. Waste Treatment. (European Commission). http://www.tdcolive.net/documents/booklet/D14k_Waste_Treatment_V1.0.pdf.

Kogan, M., S. Rojas, P. Gómez, F. Suárez, J.F. Muñoz. 2007. Evaluation of six pesticides leaching indexes using field data of herbicide application in Casablanca Valley, Chile. *Water Sci. Technol.* 56, 169-178.

Köhne, J.M., S. Köhne, J. Šimůnek. 2009. A review of model applications for structured soils: b) Pesticide transport. *J. Con. Hyd.* 104, 36-60.

Kool, J.B., M.Th. van Genuchten. 1991. HYDRUS one-dimensional variability saturated flow and transport model, including hysteresis and root uptake. USDA-ARS, U.S. Salinity Lab., Riverside. CA.

Koskinen, W.C., S.S. Harper. 1990. The retention process: mechanism. En: Pesticides in soil environment: Processes, impacts and modeling (H.H. Cheng, Ed), SSSA, Madison, WI. pp. 51-77.

Koskinen, W.C., L. Cox, P.Y. Yen. 2001. Changes in sorption/bioavailability of imidacloprid metabolites in soil with incubation time. *Biol. Fertil. Soils.* 33, 546-550.

Krutz, L.J., S.A.Senseman, R.M. Zablotowicz, M.A. Matocha. 2005. Reduced herbicide runoff from agricultural fields with vegetative filter strips: a review. *Weed Sci.* 53, 353-367.

Kurt-Karakus, P.B., T.F. Bidleman, D.C.G. Muir, S.J. Cagampan, J. Struger, E. Sverko, J.M. Small, L.M. Jantunen. 2008. Chiral current-use in Ontario streams. *Environ. Sci. Technol.* 42, 8452-8458.

Hutson, J.L., R.J. Wagenet. 1992. LEACHP: A process-based model of water and solute movement, transformations, plant up take and chemical reactions in the unsaturated zone. Res. Ser. 92-3. Dep. of Soil, Crop and Atmos. Sci., Cornell University, Ithaca, NY.

Lagaly, G. 1981. Characterization of clays by organic compounds. *Clay Minerals.* 16, 1-21.

Lagaly, G. 1982. Layer charge heterogeneity in vermiculites. *Clays Clay Miner.* 30, 215-222.

Lagaly, G. 1994. Bentonites: adsorbent of toxic substances. *Prog. Colloid. Polym. Sci.* 95, 61-72.

Lagaly, G. 2001. Pesticide-clay interactions and formulations. *Appl. Clay Sci.* 18, 205-209.

Laird, D.A., E. Barriuso, R.H. Dowdy, W.C. Koskinen. 1992. Adsorption of atrazine on smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 62-67.

Laird, D.A. 1996. Interactions between atrazine and smectite surface. En: *Herbicide Metabolites in Surface Waters and Ground Waters* (M.T. Meyer y E.M. Truman, Eds) Amer. Chem. Soc. Washington D.C. pp. 86-100.

Lapides, I., M. Borisover, Yariv, S. 2011. Thermal analysis of hexadecyltrimethylammonium-montmorillonites. *J. Therm. Anal. Calorim.* 105, 921-929.

VI. Bibliografia

Lancaster, S.H., R.L. Haney, S.A. Senseman, C.M. Kenerley, F.M. Hons. 2008. Microbial degradation of fluometuron is influenced by Roundup WeatherMAX. *J. Agric. Food Chem.* 56, 8588–8593.

Laskowski, D.A., C.A.I. Goring, P.J. McCall, R.L. Swann. 1982. Terrestrial environment. En: *Environmental Risk Analysis for Chemicals* (R. Conway, Ed), Van Nostrand Reinhold Company, New York, pp. 198–240.

Lee, J.F., J. Crum, S.A. Boyd. 1989. Enhanced retention of organic contaminants by soils exchanged with organic-cations. *Environ. Sci. Technol.* 23, 1365-1372.

Lee, J.F., M.M. Mortland, C.Y. Chiou, D.E. Kile, S.A. Boyd. 1990. Adsorption of benzene, toluene, and xylene by two tetramethylammonium smectites having different charge densities. *Clays Clay Miner.* 38, 113-120.

Lee, J.J., J. Choi, J.W. Park. 2002. Simultaneous sorption of lead and chlorobenzene by organobentonite. *Chemosphere.* 49, 1309-1315.

Leonard, R.A., 1990. Movement of pesticides into surface waters. En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling* (H.H. Cheng, Ed), Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 303-320.

Li, H., L.S. Lee, J.R. Fabrege, C.T. Jatvert. 2001. Role of pH in partitioning and cation exchange of aromatic amine on water-saturated soils. *Chemosphere.* 44, 627-635.

Li, H., G. Sheng, B.J. Teppen, C.T. Johnston, S.A. Boyd. 2003. Sorption and desorption of pesticides by clay minerals and humic acid-clay complexes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 122-131.

Li, H., B.J. Teppen, C.T. Johnston, S.A. Boyd. 2004. Thermodynamics of nitroaromatic compound adsorption from water by smectite clay. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5433-5442.

Li, H., B.J. Teppen, D.A. Laird, C.T. Johnston, S.A. Boyd. 2006. Effects of increasing potassium chloride and calcium chloride ionic strength on pesticide sorption by potassium- and calcium-smectite. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70, 1889-1895.

Linares, A., J.M. Caba, F. Ligeró, T. De la Rubia, J. Martínez. 2003. Detoxification of semisolid olive-mill wastes and pine-chip mixtures using *Phanerochaete flavidio-alba*. *Chemosphere*. 51, 887–891.

Locke, M.A., R.M. Zablotowicz, R.W. Steinriede, W.L. Kingery. 2007. Degradation and sorption of fluometuron and metabolites in conservation tillage soils. *J. Agric. Food Chem.* 55, 844-851.

Lopez-Piñeiro, A., A. Albarrán, J.M.R. Nunes, C. Barreto. 2008. Short and medium-term effects of two-phase olive mill waste application on olive grove production and soil properties under semiarid mediterranean conditions. *Biores. Technol.* 99, 7982-7987.

López-Piñeiro, A., D. Cabrera, A. Albarrán, D. Peña. 2011. Influence of two-phase olive mill waste application to soil on terbutylazine behaviour and persistence under controlled and field conditions. *J. Soils Sediments*. 11, 771–782.

Lozano-García, B., L. Parras-Alcántara, M. del Toro Carrillo de Albornoz. 2011. Effects of oil mill wastes on surface soil properties, runoff and soil losses in traditional olive groves in southern Spain. *Catena*. 85, 187–193.

Ludwig, P., W. Gunkel, H. Hühnerfuss. 1992. Chromatographic separation of the enantiomers of marine pollutants. Part 5: enantioselective degradation of phenoxy carboxylic acid herbicides by marine microorganisms. *Chemosphere*. 24, 10, 1423-1429.

Madejón, E., E. Galli, U. Tomati. 1998. Composting of wastes produced by low water consuming olive mill technology. *Agrochimica*. 42,135–146.

MAGRAMA. 2009. Perfil Ambiental de España 2009: informe basado en indicadores. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. <http://www.magrama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/informacion-ambiental-indicadores-ambientales/indicadores-ambientales-perfil-ambiental-de-espana/perfil-ambiental-de-espana-2009/>

MAGRAMA. 2010. Perfil Ambiental de España 2009: informe basado en indicadores. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. http://www.magrama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/informacion-ambiental-indicadores-ambientales/1MargoGeneral_tcm7-161518.pdf

VI. Bibliografía

Majumdar, K., N. Singh. 2007. Effect of soil amendments on sorption and mobility of metribuzin in soils. *Chemosphere*. 66, 630-637.

Mansour, M., E. Feicht, P. Mealier. 1989. Improvement of the photostability of selected substances in aqueous medium. *Toxicol. Environ. Chem.* 20/21, 139-147.

Margulies, L., T. Stern, B. Rubin. 1994. Slow release of S-ethyl dipropyl carbamothioate from clay suefaces. *J. Agric. Food Chem.* 42, 1223-1227.

MARM, 2009. Perfil Ambiental de España 2009: informe basado en indicadores. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Martin, R.T., S.W. Bailey, D.D. Eberl, D.S. Fanning, S. Guggenheim, H. Kodama, D.R. Pevear, J. Srodon, F.J. Wicks. 1991. Report of the clay minerals society nomenclature committee: revised classification of clay materials. *Clays Clay Miner.* 39, 333-335.

Marín-Benito, J.M., M.J. Sánchez-Martín, M.S. Andrades, M. Pérez-Clavijo, M.S. Rodríguez-Cruz. 2009. Effect of spent mushroom substrate amendment of vineyard soils on the behavior of fungicides:1. Adsorption-desorption of penconazole and metalaxyl by soils and subsoils. *J. Agric. Food Chem.* 57, 9634-9642.

Matallo, M., E. Romero, F. Sánchez-Rasero, A. Peña, G. Dios. 1998. Adsorption of mecoprop and dichlorprop on calcareous and organic matter amended soils: comparative adsorption of racemic and pure enantiomeric forms. *Environ. Sci. Health-Part B*. 33, 51-66.

Matallo, M., E. Romero, A. Peña, F. Sánchez-Rasero, G. Dios. 1999. Leaching of mecoprop and dichlorprop in calcareous soil. Effect of the exogen organic matter addition in this process. *Environ. Sci. Health-Part B*. 34, 617-632.

McBride, M.B., T.J. Pinnavaia, M.M. Mortland. 1977. Adsorption of the aromatic molecules by clays in aqueous suspension. En: *Fate of Pollutants in the Air and Water Environments*. Wiley, New York. pp 145-154.

McCarthy, J.F., J.M. Zachara. 1989. Subsurface transport of contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 23, 496-502.

McGechan, M.B., D.R. Lewis. 2002. Transport of particulate and colloid-sorbed contaminants through soil, part 1: General principles. *Biosystems Eng.* 83, 255-273.

McDonald, J.A. 2006. Aerobic degradation assessment for the fungicide bas 505 using batch and intact soil core methodologies. PhD dissertation. Department of Agronomy & Environmental Management. Louisiana State University.

Monkiedje, A., M. Spiteller. 2002. Sorptive behavior of the phenylamide fungicides, mefenoxam and metalaxyl, and their acid metabolite in typical Cameroonian and German soils. *Chemosphere.* 49, 659-668.

Monvisade, P., P. Siriphannon. 2009. Chitosan intercalated montmorillonite: preparation, characterization and cationic dye adsorption. *Appl. Clay Sci.* 42, 427-431.

Moore, D.M., Jr. R.C. Reynolds. 1987. X-Ray Diffraction, Identification and Analysis of Clay Minerals. Oxford University Press, New York.

Morillo, J.A., B. Antizar-Ladislao, M. Monteoliva-Sánchez, A. Ramos-Cormenzana, N. J. Russell. 2009. Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Appl Microbiol Biotechnol.* 82, 25-39

Moronta, A. 2004. Catalytic and adsorption properties of modified clay surfaces. En: Clay surfaces. Fundamentals and Applications. (F. Wypych y K.G. Satyanarayana, Eds), Elsevier. pp.321-345.

Morrison, S.J., R.R. Spangler. 1993. Chemical barriers for controlling groundwater contamination. *Environmental Progress.* 12, 175-181.

Mortland, M.M., Raman K.V. 1968. Surface acidity of smectite in relation to hydration, exchangeable cation, and structure. *Clays and Clay Minerals.* 16, 393-398.

Mortland, M.M. 1970. Clay-organic complexes and interactions. *Adv. Agron.* 22, 75-117.

Mortland, M.M., S. Shaboi, S.A. Boyd. 1986. Clay-organic complexes as adsorbents for phenol and chlorophenols. *Clays Clay Min.* 34, 581-585.

Mueller, T.C., T.B. Moorman, C.E. Snipes. 1992. Effect of concentration, sorption, and microbial biomass on degradation of the herbicide fluometuron in surface and subsurface soils. *J. Agric. Food Chem.* 40, 2517-2522.

Müller, M.D., H.R. Buser. 1997. Conversion reactions of various phenoxyalkanoic acid herbicides in soil 1. Enantiomerization and enantioselective degradation of the chiral 2-phenoxypropionic acid herbicides. *Environ. Sci. Technol.* 31, 1953-1959.

Nelson, D.V., L.E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. En: *Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Biological Methods* (A.L. Page, R.H. Miller y D.R. Keeney, Eds), American Society of Agronomy and Soil Science of America, Madison, WI. pp. 539-579.

Nemeth-Konda, L., G. Fuleky, G. Morovjan, P. Csokan. 2002. Sorption behavior of acetochlor, atrazine, carbendazim, diazinon, imidacloprid and isoproturon on Hungarian agricultural soil. *Chemosphere.* 48, 545-552.

Nennemann, A., Y. Mishael, S. Nir, B. Rubin, T. Polubesova, F. Bergaya, H. Van Damme, G. Lagaly. 2001. Clay-based formulations of metolachlor with reduced leaching. *Appl. Clay Sci.* 18, 265-275.

Nir, S., T. Undabeytia, Y. El-Nahhal, T. Polubesova, C. Serban, G. Rytwo, G. Lagaly, B. Rubin. 2000. Optimization of adsorption of hydrophobic herbicides on montmorillonite preadsorbed by monovalent organic cations: interaction between phenyl rings. *Environ. Sci. Technol.* 34, 1269.

O'Connor, G.A., P.J. Wierenga, H.H. Cheng, K.G. Doxtader. 1980. Movement of 2,4,5-T through large soil columns. *Soil Sci.* 130, 157-162.

Ogram, A.V., R.E. Jessup, L.T. Ou, P.S.C. Rao. 1985. Effects of sorption on biological degradation rates of (2,4-dichloro-phenoxy)-acetic acid in soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 582-587.

Ohno, T., J. Chorover, A. Omoike, J. Hunt. 2007. Molecular weight and humification index as predictors of adsorption for plant- and manure-derived dissolved organic matter to goethite. *Eur. J. Soil. Sci.* 58, 125–132.

Oliveira, R.S., W.C. Koskinen, F.A. Ferreira, B.R. Khakural, D.J. Mulla, P.C. Robert. 1999. Spatial variability of imazethapyr sorption in soil. *Weed Sci.* 47, 243–248.

Onishi, Y., A.R. Olsen, M.A. Parkhurst, G. Whelan. 1985. Computer-based environmental exposure and risk assessment methodology for hazardous materials, *J. Hazard. Mater.* 10, 389–417.

Oravec, M., Z. Simek, I. Holoubek. 2010. The effect of humic acid and ash on enantiomeric fraction change of chiral pollutants. *Colloid Surface A*, 359, 60–65.

Osgerby, J.M. 1970. Sorption of un-ionized pesticides by soils. En: Sorption and Transport Processes in Soils. SCI Monograph 37, pp.63-78.

OSMAN. 2012. Observatorio de Salud y Medioambiente de Andalucía. Consejería de Salud. Plan Andaluz de Salud Ambiental 2008-2012. http://www.osman.es/contenido/varios/PlanSaludAmbiental_Prot.pdf

Park, J.H., Y.C. Feng, P.S. Ji, T.C. Voice, S.A. Boyd. 2001. Assessment of bioavailability of soil-sorbed atrazine. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3288-3298.

Parker, L.W., K.G. Doxtader. 1983. Kinetics of the microbial degradation of 2,4-D in soil: Effects of temperature and moisture. *J. Environ. Qual.* 12, 553-558.

Pérez-Ruzafa, A., S. Navarro, A. Barba, C. Marcos, M.A. Camara, F. Salas, J.M. Gutierrez. 2000. Presence of pesticides through trophic compartments of the food web in the Mar Menor lagoon (SE Spain). *Marine Pollut. Bull.* 40, 140-151.

Picó, Y., J.C. Molto, M.J. Redondo, F. Viana, J. Manes, G. Font. 1994. Monitoring pesticide levels in natural waters of the Valencia community (Spain). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 53, 230-237.

VI. Bibliografía

Plaza, C., R. Nogales, N. Senesi, E. Benitez, A. Polo. 2008. Organic matter humification by vermicomposting of cattle manure alone and mixed with two-phase olive pomace. *Bioresour Technol.* 99, 5085–5089.

Philen, O.D., S.B. Weed, J.B. Weber. 1971. Surface charge characterization of layer silicates by competitive adsorption of two organic divalent cations. *Clays Clay Miner.* 19, 295-302.

Pignatello, J.J. 1989. Sorption dynamics of organic chemicals in soils and sediments. En: *Reaction and Movement of Organic Chemicals in Soils.* (B.L. Sawhney y K. Brown, Eds.), American Society of Agronomy. Madison, WI, pp. 45-80.

Pignatello, J.J., B. Xing. 1995. Mechanism of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1-11.

Pignatello, J.J., B. Xing. 1996. Mechanism of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1-11.

Pignatello, J.J. 1998. Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants. *Adv. Colloid Interface Sci.* 76-77, 445-467.

Pignatello, J.J. 2012. Dynamic interactions of natural organic matter and organic compounds. *J. Soils Sediments*. DOI: 10.1007/s11368-012-0490-4.

Pionke, H.B., R.J. DeAngelis. 1980. Method for distributing pesticide loss in field runoff between the solution and adsorbed phase. En: *CREAMS, A Field Scale Model for Chemicals, Runoff, and Erosion from Agricultural Management Systems*, USDA Conservation Res. Rep. 26. USDA, SEA, Washington, DC. p. 607

Potter, T.L., C.C. Truman, T.C. Strickland, D.D. Bosch, T.M. Webster, D.H. Franklin, C.W. Bednarz. 2006. Combined effects of constant versus variable intensity simulated rainfall and reduced tillage management on cotton preemergence herbicide runoff. *J. Environ. Qual.* 35, 1894–1902.

PPDB: Pesticide Properties Database. 2012.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/index.htm>

Prathapar, S.A., K.H. Bowmer. 1991. Pesticide issues in irrigated agriculture can modelling help. En; *Modelling the Fate of Chemicals in the Environment*. (I.D. Moore, Ed), CRES, ANU: Canberra. pp. 9-12.

Prost, R, B. Yaron. 2001. Use of modified clays for controlling soil environmental quality. *Soil Science*. 166, 12, 880-895.

Pusino, A., W. Liu, C. Gessa. 1992. Influence of organic matter and its clay complexes on metolachlor adsorption on soil. *Pesticide Sci*. 36, 283-286.

Ramos, M.C., J. Porta. 1994. Rainfall intensity and erosive potentiality in the NE Spain Mediterranean area: First results on sustainability of vineyards. *Nuovo Cimento della società Italiana di Fisica* 17, 291-299.

Ramos, M.I., F.R. Feito, A.J. Gil. 2008. A study of spatial variability of soil loss with high resolution DEMs: A case study of a sloping olive grove in southern Spain. *Geoderma*. 148, 1-12.

Ramos-Cormenzana, A., B. Juárez-Jiménez, M.P. Garcia-Pareja. 1996. Antimicrobial activity of olive mill waste-waters (alpechin) and biotransformed olive oil mill wastewater. *Int. Biodet. Biodeg*. 38, 283-290.

Rao, P.S.C., A.G. Hornsby, R.E. Jessup. 1985. Indices for ranking the potential for pesticide contamination of groundwater. *Soil Crop Sci. Soc. Fla. Proc*. 44, 1-8.

Real, M. 2010. Adsorción, persistencia y movilidad de compuestos orgánicos polares contaminantes de suelos. TD. Universidad de Sevilla.

Redding, A.Z., S.E. Burns, R.T. Upson, E.F. Anderson. 2002. Organoclay sorption of benzene as a function of total organic carbon content. *J. Colloid Interface Sci*. 1, 261-264.

Reichenberger, S., M. Bach, A. Skitschak, H.G. Frede. 2007. Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; A review. *Sci. Tot. Environ*. 384, 1-35.

Renoud, F.G., C.D. Brown, C.J. Fryera, A. Walker. 2004. A lysimeter experiment to investigate temporal changes in the availability of pesticide residues for leaching. *Env. Pol.* 131, 81-91.

Roberts, M.G., H. Li, B.J. Teppen, S.A. Boyd. 2006. Sorption of nitroaromatics by ammonium and organic ammonium-exchanged smectite: shifts from adsorption/complexation to a partition-dominated process. *Clays Clay Miner.* 54, 426-434.

Rodríguez-Cruz, M.S. Sánchez-Martín, M.S. Andrades, M. Sánchez-Camazano. 2007. Modification of clay barriers with a cationic surfactant to improve the retention of pesticides in soils. *J. Hazard. Mat.* B139, 363-372.

Rodríguez-Cruz, M.S., M.J. Sánchez-Martín, M.J. Andrades, M. Sánchez-Camazano. 2007. Retention of pesticides in soil columns modified *in situ* with a cationic surfactant. *Sci. Total Environ.* 378, 104-108.

Rodríguez-Cruz, S., J. Balum, L.J. Shaw, S.R. Sorensen, S. Shi, T. Aspray, C.S. Jacobsen, G.D. Bending. 2010. Biodegradation of the herbicide mecoprop-p with soil depth and its relationship with class III *tfdA* genes. *Soil Bio.Biochem.* 42, 32-39.

Roig, A., M.L. Cayuela, M.A. Sánchez-Monedero. 2006. An overview on olive mill wastes and their valorization methods. *Waste Management*, 26, 960-969.

Romero, E., M.B. Matallo, A. Peña, F. Sánchez-Rasero, Ph. Schmitt-Kopplin, G. Dios. 2001. Dissipation of racemic mecoprop and dichlorprop and their pure R-enantiomers in three calcareous soils with and without peat addition. *Environ. Pollut.* 111, 209-215.

Romero, E., A. Salido, C. Cifuentes, J.D. Fernandez, R. Nogales. 2006. Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agroindustrial wastes. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 86, 289-297.

Rosen, M.J. 1987. *Surfactants and Interfacial Phenomena*. Wiley, New York.

Ruiz-Hitzky, E., P. Aranda, M. Darder, M. Ogawa. 2011. Hybrid and biohybrid silicate based materials: molecular vs. block-assembling bottom-up processes. *Chem. Soc. Rev.* 40, 801-828.

Russell, J.D., M.I. Cruz, J.L. White. 1968. The adsorption of 3-aminotriazole by montmorillonite. *J. Agric. Food. Chem.* 16, 21-24.

Rutherford, D.W., C.T. Chiou, D.E. Kile. 1992. Influence of soil organic matter composition on the partition of organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 26, 336-340.

Saavedra, M.M., M. Pastor. 2002. *Sistemas de Cultivo en Olivar: Manejo de Malas Hierbas y Herbicidas*. Editorial Agrícola Española, Madrid.

Sanchez, C., B. Julián, P. Belleville, M. Popall. 2005. Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites. *J. Mater. Chem.* 15, 3559-3592.

Sanchez, C., P. Belleville, M. Popall, L. Nicole. 2011. Applications of advanced hybrid organic-inorganic nanomaterials: from laboratory to market. *Chem. Soc. Rev.* 40, 696-753.

Sánchez, L., E. Romero, F. Sánchez-Rasero, G. Dios, A. Peña. 2003. Enhanced soil sorption of methidathion using sewage sludge and surfactants. *Pest Manag Sci.* 59, 857-864.

Sánchez-Camazano, M., M.J. Sánchez-Martín, T. Crisanto. 1995. Occurrence of atrazine in surface and ground waters in the province of Salamanca (Spain). *Toxicol. Environ. Chem.* 47, 203-208.

Sánchez-Camazano, M., M.J. Sánchez-Martín, R. Delgado-Pascual. 2000. Adsorption and mobility of linuron in soils as influenced by soil properties, organic amendments, and surfactants. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3018-3026.

Sánchez-Martín, M.J., M.S. Rodríguez-Cruz, M.S. Andrades, M. Sánchez-Camazano. 2006. Efficiency of different clay minerals modified with a cationic surfactant in the adsorption of pesticides: Influence of clay type and pesticide hydrophobicity. *Appl. Clay Sci.* 31, 216-228.

Sarkar B., M. Megharaj, Y. Xi, G.S.R. Krishnamurti, R. Naidu. 2010. Sorption of quaternary ammonium compounds in soils: Implications to the soil microbial activities. *J. Hazard. Mater.* 184, 448-456.

Sarmah, A.J., R.S. Kookana, A.M. Alston. 1998. Fate and behaviour of triasulfuron, metsulfuron-methyl, and chlorsulfuron in the Australian soil environment: a review. *Aust. J. Agric. Res.* 49, 775-790.

Savage, K.E., R.D. Wauchop. 1974. Fluometuron adsorption-desorption equilibria in soil. *Weed Sci.* 22, 106-110.

Scher H.B. 1999. Controlled-Release Delivery Systems for Pesticide, Marcel Dekker Inc., New York.

Schmidt, R.R., C. Fedtke. 1977. Metamitron activity in tolerant and susceptible plants. *Pest. Sci.* 8, 611-617.

Schnitzer, M., S.U. Khan. 1972. Humic Substances in the Environment. Ed. Marcel Dekker, New York.

Serratos, J.M., J.A. Rausell-Colom, J. Sanz. 1984. Charge density and its distribution in phyllosilicates: Effect on the arrangement and reactivity of adsorbed species. *J. Molecular Catal.* 27, 225-234.

Sheng, G.Y., S. Xu, S.A. Boyd. 1996a. Mechanism (s) controlling sorption of neutral organic contaminants by surfactant-derived and natural organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1553-1557.

Sheng, G.Y., S. Xu, S.A. Boyd. 1996b. Cosorption of organic contaminants from water by hexadecyltrimethylammonium-exchanged clays. *Wat. Res.* 30, 1483-1489.

Sheng, G.Y., S.A. Boyd. 2000. Polarity effect on dichlorobenzene sorption by hexadecyltrimethylammonium-exchanged clays. *Clays Clay Miner.* 48, 43– 50.

Sheng, G.Y., C.T. Johnston, B.J. Teppen, S.A. Boyd. 2001. Potential contributions of smectite clays and organic matter to pesticide retention in soils. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2899-2907.

Sheng, G.Y., C.T. Johnston, B.J. Teppen, S.A. Boyd. 2002. Adsorption of dinitrophenol herbicides from water by montmorillonite. *Clays Clay Miner.* 50, 25-34.

Shen, Y.H. 2004. Phenol sorption by organoclays having different charge characteristics. *Colloids Surf., A-Physicochem. Eng. Asp.* 232, 143– 149.

Si, Y.B., J. Zhang, S.Q. Wang, L.G. Zhang, D.M. Zhou. 2006. Influence of organic amendment on the adsorption and leaching of ethametsulfuronmethyl in acidic soils in China. *Geoderma.* 130, 66–67.

Si, Y., M. Wang, C. Tian, J. Zhou, D. Zhou. 2011. Effect of charcoal amendment on adsorption, leaching and degradation of isoproturon in soils. *J. Con. Hyd.* 123, 75–81.

Smith, A.E., 1989. Degradation, fate and persistence of phenoxyalkanoic acid herbicides in soil. *Rev. Weed Sci.* 4, 1-24.

Smith, A.E., A. Aubin. 1991. Effects of long-term 2,4-D, MCPA, mecoprop and 2,4,5-T. *J. Environ. Qual.* 20, 436-438.

Simunek, J.M., M. Sejna, M.Th. van Genuchten. 1996. HYDRUS 2D. Simulating water flow and solute transport in two-dimensional variability saturated media. USDA-ARS, U.S. Salinity Lab., Riverside. CA.

Singh, N., M. Megharaj, W.P. Gates, G.J. Churchman, J. Anderson, R.S. Kookana, R. Naidu, Z. Chen, P.G. Slade, N. Sethunathan. 2003. Bioavailability of an organophosphorous pesticide, fenamiphos, sorbed on an organo clay. *J. Agric. Food Chem.* 51, 2653-2658.

Song, N.H., L. Chen, H. Yang. 2008. Effect of dissolved organic matter on mobility and activation of chlorotoluron in soil and wheat. *Geoderma.* 146 (1-2), 344-352.

VI. Bibliografia

Sorensen, S.R., G.D. Bending, C.S. Jacobsen, A. Walker, J. Aamand. 2003a. Microbial degradation of isoproturon and related phenylurea herbicides in and below agricultural fields. *FEMS Microbiol. Ecol.* 45, 1-11.

Sorensen, S.R., J. Aamand. 2003b. Rapid mineralisation of the herbicide isoproturon in soil from a previously treated Danish agricultural field. *Pest Manag Sci.* 59, 1118–1124.

Steenhuis, T.S., H.B.F. Hugues, S. Pacenka, M. Gross. 1984. MOUSE user's manual. Northeast Reg. Agric. Eng. Serv., Cornell Univ Ithaca, NY.

Stephen, G. 1995. Definition of clay and clay mineral: joint report of the airopa nomenclature and cms nomenclature committees. *Clays Clay Miner.* 43, 255-256.

Stintzing, F.C., M. Hoffmann, R. Carle. 2006. Thermal degradation kinetics of isoflavone aglycones from soy and red clover. *Mol. Nutr. Food Res.* 50, 373-377.

Stringfellow, A.M., A. Simoes, D. Smallman, R. Beaven, W. Powrie, H.A.B. Potter. 2011. Sorption of Mecoprop by two clay landfill liner materials: Oxford Clay and Mercia Mudstone. *Q. J. Eng. Geol. Hydroge.* 44, 321–329.

Tabatabai, M.A., J.M. Bremmer. 1970. Use of the Leco automatic 70-record carbon analyzer for total carbon analysis of soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 24, 608-610.

Tester, C.F. 1990. Organic amendment effects on physical and chemical properties of a sandy soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54, 827–831.

Tett, V.A., A.J. Willetts, H.M. Lappin-Scott. 1994. Enantioselective degradation of the herbicide mecoprop [2-(2-methyl-4-chlorophenoxy)propionic acid] by mixed and pure bacterial cultures. *FEMS Microbiol. Ecol.* 14, 191-200.

Theng, B.K.G., D.J. Greenland, J.P. Quirk. 1967. Adsorption of alkylammonium cations by montmorillonite. *Clays Clay Miner.* 7, 1-17.

Thomas, R.G. 1982. Volatilization from soil. En: Handbook of Chemical Property Estimation Methods. (W.J. Lyman, W.P. Reehl y D.H. Rosenblatt, Eds). McGraw Hill, New York. pp. 1-50.

Thompson, R.B., R. Nogales. 1999. Nitrogen and carbon mineralization in soil of vermi-composted and unprocessed dry olive cake ("orujo seco") produced from two-stage centrifugation for olive oil extraction. *J. Environ. Sci. Health B.* 34, 917-928.

Thiery, D. 1990. Logiciel MARTHE. Modelisation d'Aquiferes par Ramassage Rectangulaire en regime Transitoire pour le calcul Hydrodynamique des Ecoulements. Tech. Doc. R 32210. BRGM, Orleans, France.

Tomlin, C.D.S., 2006. The Pesticide Manual, fourteenth Ed., British Crop Protection Council, Hampshire, U.K.

Trigo, C., R. Celis, M.C. Hermosín, J. Cornejo. 2009. Organoclay-based formulations to reduce the environmental impact of the herbicide diuron in olive groves. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 73, 1652–1657.

Trigo, C. 2010. Evaluación de formulaciones basadas en minerales de la arcilla para aumentar la eficacia y reducir la contaminación de aguas superficiales y subterráneas por herbicidas utilizados en el olivar. TD. Universidad de Sevilla.

Undabeytia, T., S. Nir, B. Rubin. 2000. Organo-clay formulations of the hydrophobic herbicide norflurazon yield reduced leaching. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4767-4773.

Undabeytia, T., T. Sánchez-Verdejo, E. Morillo, C. Maqueda. 2004. Effect of organic amendments on the retention and mobility of imazaquin in soils. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4493-4500.

Undabeytia, T, E. Recio, C. Maqueda, T. Sánchez-Verdejo, V. Balek. 2012. Slow diuron release formulations based on clay–phosphatidylcholine complexes. *Appl. Clay Sci.* 55, 53–61.

Van den Berg, F., J.J.T.I. Boesten. 1998. Pesticide leaching and accumulation model (PESTLA). Version 3.3. Description and user's guide. Tech. Doc. 43. DLO-Staring Centrum, Wageningen. The Netherlands.

Van der Werf, H.M.G. 1996. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agric. Ecosyst. Environ.* 60, 81–96.

Voudrias, E.A. 2002. The concept of a sorption chemical barrier for improving effectiveness of landfill liners. *Waste Manag. Res.* 20, 251–258.

Wagner, J., H. Chen, B.J. Brownawell, J.C. Westall. 1994. Use of cationic surfactants to modify soil surfaces to promote sorption and retard migration of hydrophobic organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 28, 231-237.

Wagner, S.C., R.M. Zablotowicz. 1997. Effect of organic amendments on the bioremediation of cyanazine and fluometuron in soil. *J. Environ. Sci. Health B.* 32, 37-54.

Wang, C.J., Li, W.T. Jiang, J.S. Jean, C.C. Liu. 2010. Cation exchange interaction between antibiotic ciprofloxacin and montmorillonite. *J. Hazard. Mat.* 183, 309–314.

Washington, J.B., J.J. Pignatello, Y. Lu, P.I. Ravikovitch, A.V. Neimark, B. Xing. 2003. Sorption hysteresis of benzene in charcoal particles. *Environ. Sci. Technol.* 37, 409-417.

Watson, J.R., A.M. Posner, J.P. Quirk. 1973. Adsorption of the herbicide 2,4-D on goethite. *J. Soil Sci.* 24, 503-511.

Wauchope, R.D. 1978. The pesticides content of surface water drainage from agricultural runoff. A semiempirical prediction formula. *J. Environ. Qual.* 9, 665-672.

Wauchope, R.D., R.S. Myers. 1985. Adsorption-desorption kinetics of atrazine and linuron in freshwater sediments aqueous slurries. *J. Environ. Qual.* 14, 132-136.

Wauchope, R.D., S. Yeh, J.B.H.J. Linders, R. Kloskowski, K. Tanaka, B. Rubin, A. Katayama, W. Kördel, Z. Gerstl, M. Lane, J.B. Unsworth. 2002. Review: Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest. Manag. Sci.* 58, 419-445.

Weber, J.B., Swain L.R., Streck H.J., Sartori. 1980. Herbicide mobility in soil leaching columns. En: *Research Methods in Weed Science*, (N.D. Camper Ed.), Southern Weed Science Society. Champaign, IL. pp. 189-200.

Weber, J.B. 1982. Ionization and adsorption-desorption of tricyclazole by soil organic matter, montmorillonite clay and Cape Fear sandy loam soil. *J. Agric. Food Chem.* 30, 584-588.

Weber, J.B., L.R. Swain. 1993. Sorption of dinicolazole and metolachlor by four soils, calcium-organic matter and calcium-montmorillonite. *Soil Sci.* 156, 171-177.

White, G.N., J.B. Dixon. 2003. *Soil Mineralogy Laboratory Manual, 9th edition*, Department of Soil and Crop Sciences, Texas A&M University, College Station, Texas.

Wiese, A.F., K.E. Savage, J.M. Chandler, L.C. Liu, L.S. Jeffery, J.B. Weber, K.S. La Fleur. 1980. Loss of fluometuron in runoff water. *J. Environ. Qual.* 9, 1-5.

Williams, G.M., I. Harrison, C.A. Carlick. O. Crowley. 2003. Changes in enantiomeric fraction as evidence of natural attenuation of mecoprop in a limestone aquifer. *J. Contam. Hydrol.* 64, 253-267.

Willian, W.T., T.C. Mueller, R.M. Hayes, C.E. Snipes, D.C. Bridges. 1997. Adsorption, dissipation, and movement of fluometuron in three southeastern United States soils. *Weed Sci.* 45, 183-189.

Woodman, N.D., A.M. Stringfellow, W. Powrie, H.A.B. Potter, A. Simoes, A. Marcosanti, F. Lazzarini, C. Pavani. 2011. Transport of Mecoprop through Mercia Mudstone and Oxford Clay at the laboratory scale. *Q. J. Eng. Geol. Hydroge.* 44, 331-344.

VI. Bibliografía

Worrall, F., A. Parker, J.E. Rae, A.C. John. 1999. A study of suspended and colloidal matter in the leachate from lysimeters and its role in pesticide transport. *J. Environ. Qual.* 28, 595-604.

Worrall, F., M. Fernández-Pérez, A.C. Johnson, F. Flores-Céspedes, E. González-Pradas. 2001. Limitation of the role of incorporated organic matter in reducing pesticide leaching. *J. Contaminant Hydrology.* 49, 241-262.

Xi, Y., W. Martens, H. He, R.L. Frost. 2004. Thermogravimetric analysis of organoclays intercalated with the surfactant octadecyltrimethylammonium bromide. *J. Therm. Anal. Calorim.* 81, 91-97.

Xu, S., J.B. Harsh. 1990. Monovalent cation selectivity qualitatively modelled according to hard/soft acid base theory. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54, 357-363.

Xu S., J.B. Harsh. 1992. Alkali cation selectivity and surface charge of 2:1 clay minerals. *Clays Clay Miner.* 40, 567-574.

Xu, S., S.A. Boyd 1995. Cationic surfactant sorption to a vermiculite subsoil via hydrophobic bonding. *Environ. Sci. Technol.* 29, 312-320.

Yariv, S., 2004. The role of charcoal on DTA curves of organo-clay complexes: an overview. *Appl. Clay Sci.* 24, 225-236.

Yaron-Marcovich, D., Y. Chen, S. Nir, R. Prost. 2005. High resolution electron microscopy structural studies of organo-clay nanocomposites. *Environ. Sci. Technol.* 29, 1231-1238.

Zablotowicz, R.M., M.A. Locke, L.A. Gaston, C.T. Bryson. 2000. Interactions of tillage and soil depth on fluometuron degradation in a Dundee silt loam soil. *Soil Tillage Res.* 57, 61-68.

Zablotowicz, R.M., M.A. Locke, L.A. Gaston. 2007. Tillage and cover effects on soil microbial properties and fluometuron degradation. *Biol. Fertil. Soils.* 44, 27-35.

Zhang, Z.Z., D.L. Sparks, N.C. Scrivner. 1993. Sorption and desorption of quaternary amine cations on clays. *Environ. Sci. Technol.* 27, 1625-1631.

Zhao, H., W.F. Jaynes, G.F. Vance. 1996. Sorption of the ionisable organic compound, dicamba (3,6-dichloro-2-methoxy benzoic acid), by organo-clays. *Chemosphere*. 33, 2089-2100.

Zipper, C., C. Bolliger, T. Fleischmann, M.J.F. Suter, W. Angst, M.D. Müller, H.P.E. Kohler. 1999. Fate of the herbicides mecoprop, dichlorprop, and 2,4-D in aerobic and anaerobic sewage sludge as determined by laboratory batch studies and enantiomer-specific analysis. *Biodegradation* .10, 271–278.



VII. PUBLICACIONES

Organoclays as Soil Amendments to Increase the Efficacy and Reduce the Environmental Impact of the Herbicide Fluometuron in Agricultural Soils

BEATRIZ GÁMIZ, RAFAEL CELIS,* MARÍA C. HERMOSÍN, AND JUAN CORNEJO

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, P.O. Box 1052, 41080 Sevilla, Spain

The use of pesticides in agriculture has become a source of pollution of soil and water in the last decades. Extensive pesticide transport losses due to leaching and runoff produce nonpoint source contamination of soils and water. One of the soil processes that reduce pesticide transport losses is adsorption by soil particles; therefore, enhancement of pesticide retention by soil can be used as a strategy to attenuate the environmental impact of pesticides. In this work, organoclays were prepared by treating Wyoming montmorillonite (SWy-2) and Arizona montmorillonite (SAz-1) with different organic cations and were assayed as soil amendments to enhance the retention and reduce the leaching losses of the herbicide fluometuron [*N,N*-dimethyl-*N'*-[3-(trifluoromethyl)phenyl] urea] in soils. Two agricultural soils from Southern Spain were selected for being high-risk scenarios of ground and surface water contamination. First, a batch adsorption study was conducted to identify organoclays with high affinity for fluometuron. Among the different organoclays assayed, spermine-treated Wyoming montmorillonite (SW-SPERM) displayed high and reversible adsorption of fluometuron and was selected as an amendment for subsequent persistence, leaching, and herbicidal activity experiments of fluometuron with unamended and amended soils. Amendment of the soils with SW-SPERM at rates of 1%, 2%, and 5% greatly enhanced fluometuron retention by the soils and retarded fluometuron leaching through soil columns. Incubation experiments revealed that the persistence of the herbicide in the amended soils was similar to that in unamended soils and that most of the herbicide was ultimately available for degradation. Bioassays demonstrated that the reduced leaching losses of fluometuron in soils amended with SW-SPERM may result in increased herbicide efficacy if heavy rainfall events occur shortly after herbicide application.

KEYWORDS: Adsorption; fluometuron; leaching; organoclays; soil amendments

INTRODUCTION

The environmental problems associated with the use of pesticides in agriculture are a matter of increasing concern because pesticides are increasingly being detected in ground and surface waters. One main problem associated with pesticide use results from extensive pesticide transport losses through leaching and runoff processes. Such losses can be particularly noticeable in the case of highly mobile, soluble pesticides. This has led to a considerable amount of research directed to predict the environmental fate of agricultural pesticides and to prevent their adverse environmental effects, such as ground and surface water pollution (1, 2).

The environmental fate of pesticides is greatly dependent on site-specific environmental variables, such as soil characteristics or climatic conditions (3). In Southern Spain, two high-risk scenarios of ground and surface water contamination by pesticides are

cotton and olive crops. Adequate weed control has traditionally been more difficult to achieve in cotton than in other spring crops because cotton grows slowly early in the season and thus is less competitive with weeds (4). In olive groves, soil composition and pronounced slopes favor herbicide leaching and runoff (5). The risk of herbicide transport losses is exacerbated in Southern Spain because most soils are poor in organic matter (i.e., < 2%), and short but heavy rainfall events are relatively common, particularly in spring and autumn, when herbicides are commonly applied. These entire factors make Southern Spain a high-risk scenario for ground and surface water contamination (6), and appropriate management practices are needed to minimize pesticide transport losses and movement to ground and surface water.

Fluometuron [*N,N*-dimethyl-*N'*-[3-(trifluoromethyl)phenyl] urea] is a pre- and early postemergence phenylurea herbicide widely used to control grass and broad-leaf weeds in cotton and olive crops. Several studies have been conducted to understand the behavior of this herbicide in soils, including studies on the effects of tillage and cover crops (7–10), degradation studies (11–13), as well as the development of different strategies to reduce herbicide losses and mitigate pollution, such as the use

*Corresponding author. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, Apartado 1052, 41080 Sevilla, Spain. Phone: +34 954624711. Fax: +34 954624002. E-mail: reelis@irnase.csic.es.

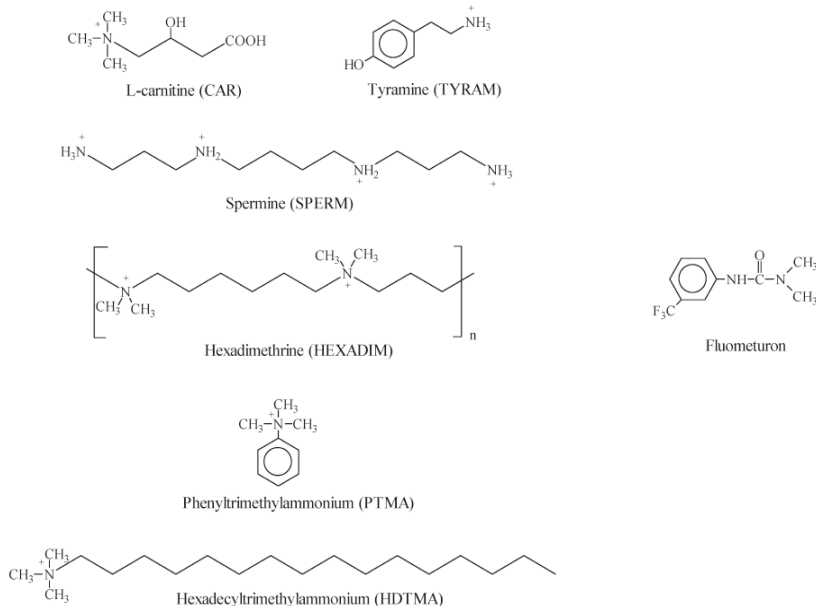


Figure 1. Chemical structures of fluometuron and the organic cations.

of organic amendments (14) and controlled release formulations (15).

Unaltered and modified clay minerals have been proposed as adsorbents to reduce the environmental impact of pesticides (16–19). Clay minerals are very good adsorbents mainly for cationic and highly polar, neutral pesticides. Nevertheless, they can be easily modified to enhance their affinity also for hydrophobic pesticides. Organoclays, that is, natural clay minerals with their original inorganic exchange cations replaced with organic cations, have been proven to be very good adsorbents for different classes of pesticides because the organic cations change the nature of the clay mineral surface from hydrophilic to hydrophobic, thus increasing its affinity for hydrophobic compounds (19–21). The modification of clay minerals with naturally occurring organic cations has recently been pointed out as particularly interesting to reduce concern about the incorporation of these materials into soil and aquatic environments for practical applications (5, 6, 22, 23).

Organoclays have extensively been proposed as adsorbents to remove pesticides from water and as supports in pesticide slow release formulations; however, literature on the potential usefulness of organoclays as soil amendments to enhance the pesticide retention process in soil with the purpose of optimizing the behavior of pesticides in agricultural soils is scarce (24). The objectives of this article were (i) to develop organoclays with high affinity for the herbicide fluometuron and (ii) to evaluate, under laboratory conditions, the effects of adding organoclays to two soils from Southern Spain on fluometuron sorption, persistence, leaching, and bioefficacy in the soils. Beneficial effects of the addition of organoclays to the soils with regard to efficacy and environmental impact of the herbicide fluometuron are discussed.

MATERIALS AND METHODS

Herbicide, Soils, and Organoclays. Fluometuron (Figure 1) is a phenylurea herbicide with a molecular weight of 232.2 g mol⁻¹ and a water

solubility of 110 mg L⁻¹ at 20 °C. Pure analytical fluometuron (purity = 99.5%) purchased from Sigma-Aldrich (Spain) was used to prepare the external standards for fluometuron analysis and the initial solutions used in the batch adsorption experiments. Commercial fluometuron (Dinagum Linz, 50% suspension concentrate) from Bayer (Spain) was used in the persistence, column leaching, and bioassay experiments.

Two soils (A and B) from Seville (SW Spain) were used in this study. The two soils had similar pH and organic carbon contents, but they had markedly different textures (Table 1). Soil A was a clay soil sampled from a cotton area located in Las Cabezas de San Juan (Seville, Spain) and was found to contain a background concentration of fluometuron of 0.24 mg kg⁻¹, presumably resulting from previous applications of this herbicide to the soil as an agricultural practice. Soil B was a sandy loam soil sampled from an olive grove located in Coria del Río (Seville, Spain) and contained no background concentration of fluometuron. The soils were sampled (0–20 cm), air-dried, sieved (2 mm), and stored at 4 °C until used.

The synthesis and characterization of the organoclays used in this work have previously been described in detail in Celis et al. (6). Briefly, Na-rich Wyoming montmorillonite (SWy-2) and Ca-rich Arizona montmorillonite (SAz-1) from The Clay Minerals Society (Purdue University) were modified with the following organic cations (Figure 1): L-carnitine (CAR), spermine (SPERM), hexadimethrine (HEXAD), tyramine (TYRAM), phenyltrimethylammonium (PTMA), and hexadecyltrimethylammonium (HDTMA). Modification was carried out through ion exchange reactions by treating the montmorillonites with solutions containing an amount of organic cation equal to 100% of the cation exchange capacity of the clays ($CEC_{SWy-2} = 76.4 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$; $CEC_{SAz-1} = 120 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$). All organic cations were supplied by Sigma-Aldrich as high-purity chloride or bromide salts (purity > 98%). The nomenclature and some characteristics of the unmodified and modified montmorillonite samples used in this work are summarized in Table 2.

Adsorption of Fluometuron by the Organoclays. Adsorption of fluometuron by the unmodified and modified montmorillonite samples was determined at a single initial herbicide concentration $C_{in} = 1 \text{ mg L}^{-1}$ using the batch equilibration procedure. Triplicate 20 mg montmorillonite samples were equilibrated with 8 mL of an aqueous solution of fluometuron (1 mg L^{-1}) by shaking for 24 h at 20 ± 2 °C. After equilibration, the

Article

J. Agric. Food Chem., Vol. 58, No. 13, 2010 7895

Table 1. Physicochemical Properties of the Soils Used

soil	texture	sand (%)	silt (%)	clay (%)	organic C (%)	pH	fluometuron content ^a (mg kg ⁻¹)
soil A	clay	15	26	59	0.73	7.2	0.24
soil B	sandy loam	67	8	25	0.52	7.2	

^a Background concentration of fluometuron (mg kg⁻¹ air-dried soil) determined by extraction of 4 g of soil with 10 mL of methanol.

Table 2. Nomenclature and Some Characteristics of the Unmodified and Modified Montmorillonites Used in This Work

	montmorillonite	organic cation	OCIS ^a (%)	d ₀₀₁ ^b (Å)
SWy-2 (Blank)	SWy-2		0	15.1
SW-CAR	SWy-2	L-carnitine	61	14.2
SW-SPERM	SWy-2	spermine	96	13.0
SW-HEXADIM	SWy-2	hexadimetre	88	14.0
SA-TYRAM	SWy-2	tyramine	62	14.4
SW-PTMA	SWy-2	phenyltrimethylammonium	82	14.6
SW-HDTMA	SWy-2	hexadecyltrimethylammonium	93	18.0
SAz-1 (Blank)	SAz-1		0	15.2
SA-CAR	SAz-1	L-carnitine	41	14.8
SA-SPERM	SAz-1	spermine	96	13.0
SA-HEXADIM	SAz-1	hexadimetre	88	14.2
SA-TYRAM	SAz-1	tyramine	50	15.0
SA-PTMA	SAz-1	phenyltrimethylammonium	79	15.0
SA-HDTMA	SAz-1	hexadecyltrimethylammonium	101	24.0

^a Organic cation saturation: percentage of the CEC of SWy-2 or SAz-1 compensated by organic cations (calculated from the N content of the samples).

^b Basal spacing values for air-dried oriented specimens.

suspensions were centrifuged, and 4 mL of the supernatant solution was removed, filtered using glass fiber filters (pore diameter = 0.45 µm), and analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) to determine the equilibrium concentration, C_e (mg L⁻¹), of fluometuron. The amount of fluometuron adsorbed, C_s (mg kg⁻¹), was determined from the difference between the initial (C_{ini}) and equilibrium (C_e) herbicide concentrations. Triplicate fluometuron initial solutions (1 mg L⁻¹) without adsorbent were also shaken for 24 h and served as controls. The percentage of fluometuron adsorbed (% Ads) was calculated by using the following formula: % Ads = $[(C_{ini} - C_e)/C_{ini}] \times 100$. Distribution coefficients for organoclay, K_d (L kg⁻¹), were calculated as $K_d = C_s/C_e$.

For the organoclays displaying the greatest affinity for fluometuron (SA-HDTMA, SW-SPERM, and SW-HDTMA), adsorption-desorption isotherms were also obtained. Triplicate 20 mg adsorbent samples were equilibrated by shaking for 24 h at 20 ± 2 °C with 8 mL of solutions with different initial fluometuron concentrations (C_{ini} = 0.1, 0.2, 1, and 2 mg L⁻¹). After equilibration, the suspensions were centrifuged, and 4 mL of the supernatant solutions were removed, filtered, and analyzed by HPLC. The amount of herbicide adsorbed was calculated from the difference between the initial and equilibrium fluometuron concentrations. Desorption was measured immediately after adsorption from the highest equilibrium point of the adsorption isotherm. The 4 mL of supernatant removed for the adsorption analysis was replaced with 4 mL of distilled water. After shaking for 24 h at 20 ± 2 °C, the suspensions were centrifuged, and the herbicide concentration was determined in the supernatant. This desorption procedure was repeated three times. Adsorption isotherms were fit to the logarithmic form of the Freundlich equation: $\log C_s = \log K_f + N_f \log C_e$, where C_s (mg kg⁻¹) is the amount of fluometuron adsorbed at the equilibrium concentration C_e (mg L⁻¹), and K_f and N_f are the empirical Freundlich constants.

Adsorption of Fluometuron by Unamended and Amended Soils.

The organoclays with higher affinity for fluometuron (SA-HDTMA, SW-SPERM, and SW-HDTMA) were selected as soil amendments to determine their effect on fluometuron adsorption by the soils. For this purpose, triplicate 4 g soil samples were amended with SA-HDTMA, SW-SPERM, or SW-HDTMA at different rates (0%, 1%, 2%, and 5%) and then equilibrated by shaking for 24 h at 20 ± 2 °C with 8 mL of an aqueous

solution of fluometuron with an initial concentration C_{ini} = 1 mg L⁻¹. After equilibration, the suspensions were centrifuged, and 4 mL of the supernatant solution was removed, filtered, and analyzed by HPLC. The amount of fluometuron adsorbed (C_s) was determined by the difference between the initial (C_{ini}) and equilibrium (C_e) herbicide concentrations. For soil A, the initial concentration of fluometuron was corrected by taking into account the additional amount of herbicide already present in the 4 g of soil, which represented about 10% of the fluometuron added in the initial solution. Percentages of fluometuron adsorbed (% Ads) and distribution coefficients, K_d (L kg⁻¹), were calculated as described above.

Persistence Experiment. The persistence of fluometuron in unamended and amended soils was determined by means of an incubation experiment in which samples of 100 g of soil, either unamended or amended with SW-SPERM at different rates (1%, 2%, and 5%), were spiked with the commercial formulation of fluometuron (2 mg a.i. kg⁻¹ soil) and then incubated in glass jars at 20 ± 2 °C for up to 75 days. The moisture content was maintained at a constant level (40% for soil A and 30% for soil B), close to the water holding capacities of the soils, throughout the experiment by adding distilled water as necessary. Periodically, duplicate 3 g soil aliquots were sampled and frozen until analyzed. Fluometuron residues in the 3 g soil aliquots were determined by extraction with 8 mL of methanol (24 h shaking), followed by centrifugation and analysis of the supernatant by HPLC. Preliminary experiments had shown that this extraction procedure recovered >95% of the fluometuron freshly applied to the soils.

Column Leaching Experiment. A column leaching experiment was designed to assess the ability of spermine-exchanged montmorillonite (SW-SPERM) as a soil amendment to reduce the leaching of fluometuron through the soil profile. Leaching was studied in glass columns of 30 cm length × 3.1 cm i.d. The top 5 cm of the columns was filled with 10 g of sea sand and the bottom 5 cm with 10 g of sea sand plus glass wool, to prevent the loss of soil during the experiment. The rest of the column (20 cm) was hand-packed with 160 g of either unamended or amended soil. Amendment consisted of mixing the upper 10 g of soil (i.e., about 1.25 cm) with SW-SPERM at a rate of 1%, 2%, or 5%. The amounts of SW-SPERM added corresponded to 1325, 2650, or 6625 kg ha⁻¹. The unamended and amended soil columns were saturated by adding 100 mL of distilled water to the top of the columns, then allowing them to drain for 24 h. The calculated pore volume of the columns after saturation was 63 ± 1 mL for soil A and 56 ± 1 mL for soil B. The amount of commercial formulation of fluometuron corresponding to an agronomic dose of 2 kg a.i. ha⁻¹ was applied to the top of the saturated soil columns. Daily, 15 mL of deionized water was added to the top of the columns, the leachates were collected, and the concentration of fluometuron in the leachates was determined by HPLC. At the end of leaching experiment, soil samples of approximately 40 g were taken from different depths of the columns (0–5, 5–10, 10–15, and 15–20 cm) and were extracted once with 100 mL of methanol by shaking mechanically at 20 ± 2 °C for 24 h. The suspensions were centrifuged, filtered, and analyzed by HPLC to determine the residual amounts of fluometuron at different depths of the soil columns. All leaching experiments were conducted in triplicate.

Bioassays. To evaluate the weed control efficacy of fluometuron in SW-SPERM-amended soil, a bioassay was conducted. *Eruca vesicaria* seeds (Vilmorin, France) were planted in duplicate 6 cm height × 50 cm² surface pots filled with 200 g of soil B. The upper 56 g (i.e., about 1.25 cm) of soil was amended with SW-SPERM at different rates (0%, 1%, 2%, and 5%). The pots were saturated with water, allowed to drain for 24 h, and 15 seeds of *Eruca vesicaria* were arranged on the soil surface. The commercial formulation of fluometuron was applied at a rate of 2 kg ha⁻¹. Control pots of unamended soil without herbicide were also prepared. The pots were watered daily with about 10 mL of distilled water. Two weeks after herbicide application, *Eruca vesicaria* plants (shoots and leaves) were cut and weighed to determine herbicide efficacy in the unamended and amended soils.

A separate experiment was designed to assess whether the reduced leaching of fluometuron in SW-SPERM-amended soil could result in improved weed control efficacy of the herbicide after a high water input event just after herbicide application. For this purpose, control, unamended, and SW-SPERM (1%-amended) soil pots were prepared as described above. Afterward, fluometuron was applied at a rate of 2 kg ha⁻¹, and immediately, 300 mL of distilled water was added to each pot,

thus simulating a water input of 60 mm. The pots were allowed to drain for 4 days, and leachates were collected and analyzed to determine the amount of fluometuron leached from each pot. Then, 15 seeds of *Eruca vesicaria* were planted, and three weeks after herbicide application, *Eruca vesicaria* plants were cut and weighed to compare the herbicidal efficacy of the residual amount of fluometuron present in the unamended and amended soil pots.

Analysis of Fluometuron. Fluometuron was determined by HPLC using a Waters 600E chromatograph coupled to a Water 996 diode-array detector. The conditions used were as follows: Novapack C18 column (150 mm length \times 3.9 mm i.d.), 60:40 water/acetonitrile eluent mixture at a flow rate of 1 mL min⁻¹, 25 μ L injection volume, and UV detection at 243 nm. External calibration curves with four standard solutions between 0.1 and 2 mg L⁻¹ were used in the calculations. Instrumental LOD was calculated as the lowest observable concentration giving a signal-to-noise (S/N) ratio of 3:1, while instrumental LOQ was calculated as the concentration resulting in an S/N ratio of 10:1. The LOD and LOQ were 0.01 mg L⁻¹ and 0.03 mg L⁻¹, respectively (25).

RESULTS AND DISCUSSION

Fluometuron Adsorption by the Organoclays. A preliminary adsorption experiment at a single initial herbicide concentration of 1 mg L⁻¹ was conducted to determine the affinity of fluometuron for different organoclays (Figure 2). The extent of fluometuron adsorption by the organoclays greatly depended on the nature of the modifying organic cation. The organoclays SA-HDTMA, SW-SPERM, and SW-HDTMA adsorbed much more herbicide than the unmodified montmorillonites. This result is very similar to that previously reported for the adsorption of the herbicide diuron by the same organoclays and under the same experimental conditions (6). Fluometuron is a phenylurea herbicide very similar to diuron and accordingly follows a very similar

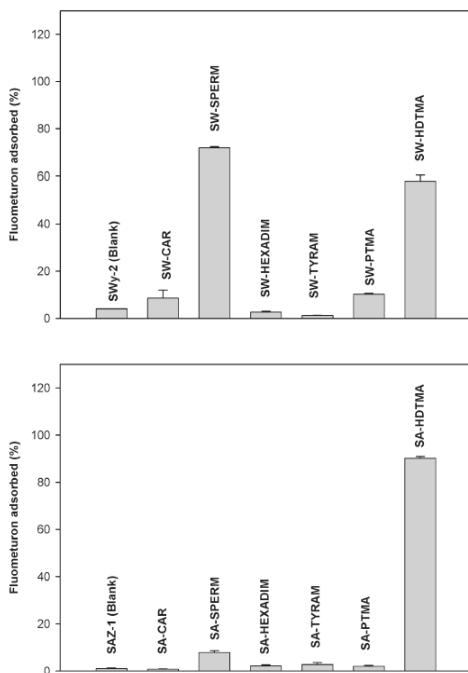


Figure 2. Percentages of fluometuron adsorbed on unmodified and modified montmorillonites at an initial herbicide concentration of 1 mg L⁻¹.

adsorption pattern on organoclays. Nevertheless, the adsorption values shown in Figure 2 are slightly less than those reported by Celis et al. (6) for diuron, most likely because the higher water solubility of fluometuron compared to that of diuron slightly reduces its adsorption by the organoclays. The high affinity of fluometuron for SW-HDTMA and SA-HDTMA can be attributed to hydrophobic interactions between the herbicide and the alkyl chains of HDTMA cations, whereas its high affinity for SW-SPERM could be due to a combination of (i) hydrophobic

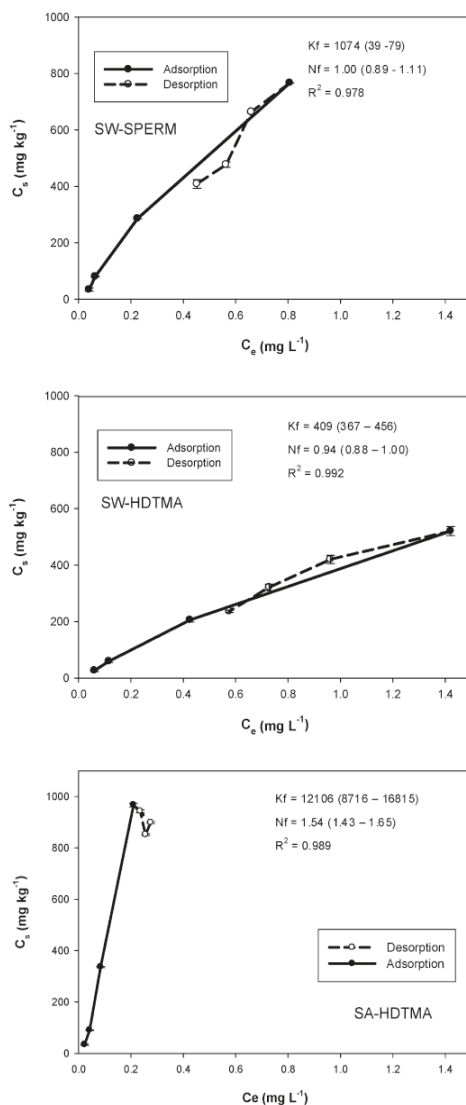


Figure 3. Fluometuron adsorption–desorption isotherms on SW-HDTMA, SW-SPERM, and SA-HDTMA and corresponding Freundlich coefficients for each adsorption isotherm. Values in parentheses correspond to the ranges of the Freundlich coefficients (K_f and N_f).

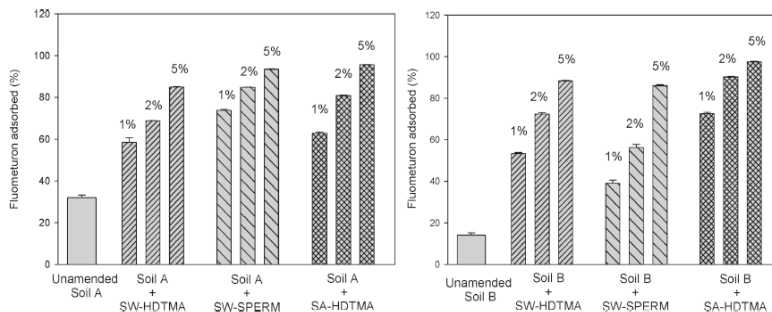


Figure 4. Percentage of fluometuron adsorbed on unamended and organoclay-amended soils at an initial herbicide concentration of 1 mg L^{-1} .

interactions between the herbicide and the alkyl chains of spermine and (ii) the formation of hydrogen bonding between the C=O group of the herbicide and the $-\text{NH}_3^+/-\text{NH}_2^+$ groups of spermine, as proposed for diuron (6).

On the basis of the adsorption results obtained at a single initial concentration 1 mg L^{-1} , the organoclays with higher affinity for fluometuron (SA-HDTMA, SW-SPERM, and SW-HDTMA) were selected to obtain adsorption–desorption isotherms (Figure 3). Freundlich parameters derived from the adsorption isotherms are included in Figure 3. K_f values increased in the following order: SW-HDTMA < SW-SPERM < SA-HDTMA, which is consistent with the results obtained at a single initial herbicide concentration of 1 mg L^{-1} . Desorption curves showed high reversibility for SW-HDTMA and SW-SPERM. The SA-HDTMA desorption curve was not well defined because the high adsorption fluometuron on this sample resulted in very low equilibrium concentrations, which made the desorption analysis complicated (6, 26).

Fluometuron Adsorption by Unamended and Amended Soils. Figure 4 shows the percentages of fluometuron adsorbed on the unamended soils and on the soils amended with different amounts of SA-HDTMA, SW-SPERM, and SW-HDTMA. The adsorption of fluometuron on unamended soil A was greater than that on unamended soil B, probably because soil A had greater clay content and also slightly greater organic matter content than soil B. For both soils, amendment with all three organoclays led to an increase in fluometuron adsorption. The increase in adsorption depended on the soil and on the nature and amount of organoclay added, being more noticeable in soil B because this soil had lower affinity for fluometuron than soil A.

The experimentally measured distribution coefficients, $K_{d\text{-meas}}$, for fluometuron adsorption on the amended soils are compared in Table 3 with the expected values, $K_{d\text{-calc}}$, calculated assuming an independent adsorption behavior of the soil and the organoclay in the mixtures. Assuming linear adsorption, such expected values can be calculated according to the following equation:

$$K_{d\text{-calc}} = K_{d\text{-soil}}f_{\text{soil}} + K_{d\text{-OCI}}f_{\text{OCI}} \quad (1)$$

where $K_{d\text{-soil}}$ and $K_{d\text{-OCI}}$ are the individual distribution coefficients for fluometuron adsorption on soil and organoclay, respectively, and f_{soil} and f_{OCI} are the fraction of soil and organoclay, in the mixture, respectively (27). It is worth noting that although the organoclays increased the adsorption of fluometuron by the soils, the increase was always less than what could be expected from the individual adsorption constants and the fraction of soil and organoclay in the mixtures ($K_{d\text{-meas}} < K_{d\text{-calc}}$). This result reveals that organoclays are less effective in adsorbing fluometuron in the presence of soil than in the absence of soil.

Table 3. Measured and Calculated Distribution Coefficients, K_d (L kg^{-1}), for Fluometuron Adsorption on Unamended and Organoclay-Amended Soils^a

treatment	soil A		soil B	
	$K_{d\text{-meas}}$	$K_{d\text{-calc}}$	$K_{d\text{-meas}}$	$K_{d\text{-calc}}$
unamended	0.9 ± 0.1^b		0.3 ± 0.1	
SW-HDTMA- 1%	2.8 ± 0.3	6.5	2.3 ± 0.1	5.9
SW-HDTMA- 2%	4.3 ± 0.1	11.9	5.2 ± 0.2	11.3
SW-HDTMA- 5%	10.8 ± 0.1	27.5	14.2 ± 0.4	27.0
SW-SPERM- 1%	4.7 ± 0.1	11.1	1.3 ± 0.1	10.5
SW-SPERM- 2%	11.0 ± 0.1	21.1	2.6 ± 0.2	20.5
SW-SPERM- 5%	27.4 ± 0.4	49.8	11.8 ± 0.5	49.2
SA-HDTMA- 1%	3.4 ± 0.1	37.8	5.3 ± 0.2	37.2
SA-HDTMA- 2%	8.3 ± 0.1	73.9	18.2 ± 0.6	73.3
SA-HDTMA- 5%	41.4 ± 0.8	178.1	78.2 ± 8.4	177.5

^aThe initial herbicide concentration was 1 mg L^{-1} . ^bMean \pm standard error.

Probably, the interaction of certain soil components with the organoclays resulted in competition for sorption sites or surface blockage effects which reduced the performance of the organoclays in adsorbing fluometuron (28). However, differences between $K_{d\text{-meas}}$ and $K_{d\text{-calc}}$ depended not only on the organoclay but also on the soil to which the organoclay was added. Thus, for SW-SPERM such differences were more noticeable in soil B, whereas for SW-HDTMA and SA-HDTMA, they were more pronounced in soil A.

Persistence, Leaching, and Bioefficacy of Fluometuron in Unamended and SW-SPERM-Amended Soils. For subsequent persistence, leaching, and herbicidal activity experiments, we selected the sample SW-SPERM as a soil amendment, on the basis of its high affinity for the herbicide and the natural origin of spermine, which is a desirable characteristic to reduce concern about incorporation of the adsorbent into natural ecosystems for practical applications (5, 6, 22, 23).

Persistence. Dissipation curves for fluometuron in the unamended and SW-SPERM-amended soils after application of the herbicide at a rate of 2 mg kg^{-1} are shown in Figure 5. The sigmoidal shapes of the fluometuron dissipation curves in both soils are typical of the degradation of compounds used as the microbial growth substrate (29). Previous work has shown that fluometuron in soil is dissipated mainly by microbial degradation, with formation of the metabolites desmethylfluometuron (DMF), trifluoromethyl phenylurea (TFMPU), and trifluoromethylaniline (TFMA) (10, 30, 31). Accumulation of DMF and, to a lesser extent, TFMA was detected by HPLC in the course of the persistence experiment with our soils (data not shown).

Dissipation of fluometuron occurred faster in soil A than in soil B. This can be attributed to the fact that soil A received previous

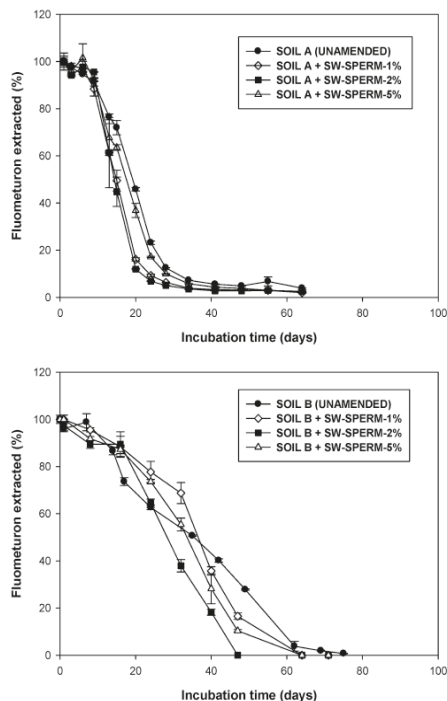


Figure 5. Dissipation curves for fluometuron in unamended and SW-SPERM-amended soils.

applications of fluometuron as an agricultural practice for cotton growing and hence probably contained a greater amount of fluometuron-degrading microorganisms (32). Interestingly, the addition of SW-SPERM did not hinder the dissipation of fluometuron in the soils, indicating that fluometuron degradation was not related to fluometuron adsorption. In no case the higher adsorption of fluometuron by the amended soils resulted in reduced degradation compared to that in the unamended soils. This may be indicative that in accordance with the high reversibility of fluometuron adsorption by SW-SPERM desorption occurred rapidly and was not a limiting step for herbicide degradation in the amended soils.

Leaching. Figure 6 shows the breakthrough curves (BTCs) of fluometuron in unamended and SW-SPERM-amended soils. The BTCs of fluometuron in soil A revealed greater retention of the herbicide and lower herbicide concentrations in leachates than the BTCs in soil B. This reflects the different textures of the soils and their different affinity for fluometuron. It should be noted that two different regions can be identified in the BTCs of soil A. At up to 100–150 mL of water added, the herbicide detected in the leachates should correspond to the endogenous fluometuron present in the soil (Table 1), whereas the fluometuron added to the soil columns appeared in the leachates at water volumes greater than 100 mL (Figure 6).

For both soils, amendment with SW-SPERM resulted in enhanced retention of the added herbicide within the soil column, leading to lower concentration of fluometuron in leachates, flattening of the relative BTCs, and shifting of the maximum concentration peaks to larger volumes of water added. These

Table 4. Observed (RF_{obs}) and Calculated (RF_{calc}) Retardation Factors for Leaching of Fluometuron in Unamended and SW-SPERM-Amended Soil Columns

treatment	soil A		soil B	
	RF_{obs}	RF_{calc}	RF_{obs}	RF_{calc}
unamended	3.3	3.4	1.8	1.9
SW-SPERM- 1%	5.0	5.0	2.6	3.7
SW-SPERM- 2%	5.7	6.6	4.0	5.5
SW-SPERM- 5%	7.4	11.1	6.6	10.5

effects increased with the amount of SW-SPERM added to the soils. For soil A, leaching of the endogenous fluometuron was not affected by the amendment since the organoclay was added only to the top 1.25 cm of soil, the rest of the column being free of amendment.

Retardation coefficients (RF) were derived as the position of the maximum concentration peaks of each BTC. The RF values reflect the number of pore volumes at which the maximum concentration of the herbicide appears in leachates (33). Observed RF values (RF_{obs}) were compared with calculated RF values (RF_{calc}), the latter calculated assuming linear, instantaneous, and reversible adsorption conditions (34):

$$RF_{calc} = 1 + (\rho/\theta)K_d \quad (2)$$

In eq 2, ρ is the bulk density of the soil (g cm^{-3}); θ is the soil volumetric water content ($\text{cm}^3 \text{cm}^{-3}$); and K_d (L kg^{-1}) is the adsorption distribution coefficient for the herbicide in the soil column. For the amended soil columns, K_d was calculated according to eq 1, f_{soil} and f_{OC} being the fractions of soil and organoclay in the soil column, respectively, and K_{d-soil} and K_{d-OC} the individual distribution coefficients for fluometuron adsorption on the soil and organoclay, respectively (27,35).

Table 4 summarizes the observed and calculated RF values for fluometuron leaching in the unamended and amended soil columns. For the unamended soils, RF_{obs} values were very close to RF_{calc} values, and both RF_{obs} and RF_{calc} values increased upon soil amendment. However, it is important to highlight that RF_{calc} values overpredicted the retention of fluometuron in the amended soil columns, although this overprediction was less than that observed in Table 3 for the distribution coefficients, K_d . This result reflects that also under column leaching conditions, the performance of SW-SPERM in adsorbing fluometuron is reduced by the presence of the soil but to a lesser extent compared to the reduction observed under batch adsorption conditions. In this regard, it should be kept in mind that in the soil column experiment the soil/water ratio was greater than that in the batch adsorption experiments and that the amended soil represented only about 6% of the total weight and length of the soil column.

Fluometuron cumulative BTCs (Figure 6) showed that the total amount of herbicide leached from the sandy loam soil (soil B) amended with SW-SPERM (39–62%) was less than that from the unamended soil (79%) and that the amount leached decreased with the amount of SW-SPERM added (Table 5). The amounts of fluometuron extracted from the soil columns at the end of the leaching experiment were less than 1% so that the amount not recovered probably corresponded to the degradation of the herbicide within the soil column and/or the formation of strongly bound herbicide residues. For the unamended clay soil (soil A), the total amount of fluometuron leached was less than that from soil (B), most likely due to the rapid degradation of the herbicide in soil A or the greater formation of bound residues. Amendment of soil A with SW-SPERM resulted in less amount of herbicide leached only at the highest dose of organoclay added (i.e., 5%). Therefore, the herbicide leaching pattern depended on both the

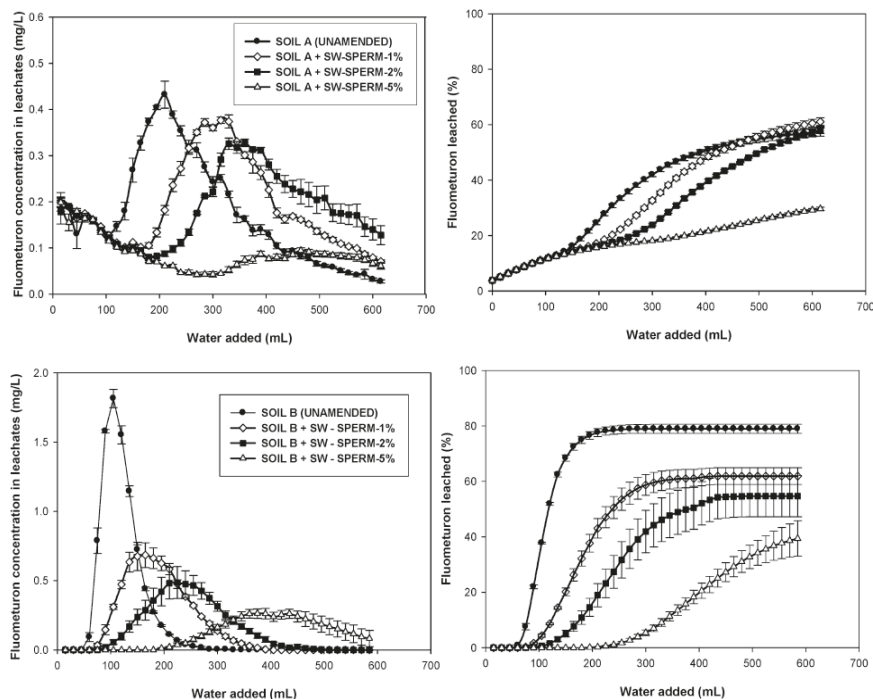


Figure 6. Relative (left) and cumulative (right) breakthrough curves (BTCs) of fluometuron in unamended and SW-SPERM-amended soils.

Table 5. Fluometuron Leached, Extracted from Soil Column, and Not Recovered after the Leaching Experiment with Unamended and SW-SPERM-Amended Soils

	Soil A			
	unamended	SW-SPERM-1%	SW-SPERM-2%	SW-SPERM-5%
leached (%)	58 ± 1 ^a	61 ± 1	58 ± 1	30 ± 1
extracted (%)	5 ± 1	9 ± 1	15 ± 2	10 ± 1
not recovered (%)	37	30	27	61

	Soil B			
	unamended	SW-SPERM-1%	SW-SPERM-2%	SW-SPERM-5%
leached (%)	79 ± 2	62 ± 3	55 ± 7	39 ± 6
extracted (%)	<1%	<1%	<1%	<1%
not recovered (%)	21	38	45	61

^a Mean ± standard error.

amount of SW-SPERM and the nature of the soil to which SW-SPERM was added.

Bioefficacy. The herbicidal efficacy of fluometuron applied to pots of soil B in which *Eruca vesicaria* had been seeded was found to decrease with the amount of SW-SPERM added (Figure 7a). The low solution concentrations of fluometuron in the soil pots amended with high rates of SW-SPERM probably reduced the herbicide efficacy in the control of *Eruca vesicaria*. The herbicide efficacy in the soil amended with SW-SPERM at a rate of 1% was, however, very similar to that in unamended soil. This indicates that low rates of SW-SPERM may combine reduced leaching of the herbicide and adequate weed control.

A separate experiment was designed to assess whether the reduced leaching of fluometuron in SW-SPERM (1%)-amended soil could result in improved weed control efficacy of the herbicide after high water input just after herbicide application. For this purpose, control, unamended, and SW-SPERM (1%)-amended soil pots were irrigated with 60 mm of water just after fluometuron application, and then *Eruca vesicaria* was seeded and the biomass determined after three weeks. Analysis of the leachates collected from the pots revealed that 88 ± 2% of the applied herbicide had been leached from the unamended soil pots, whereas only 40 ± 3% had been leached from the SW-SPERM (1%)-amended pots. Figure 7b shows that the greater amount of herbicide remaining in the amended soil pots resulted in greater

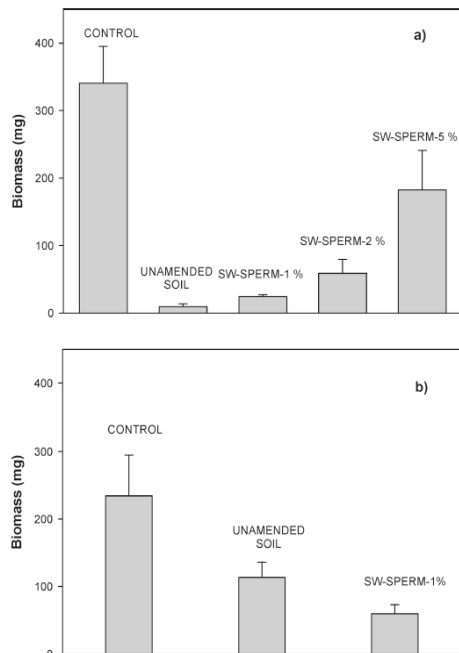


Figure 7. Effect of flumeturon on the growth of *Eruca vesicaria* in unamended and SW-SPERM-amended soil B: (a) effect of the amendment rate on herbicide efficacy; (b) effect of a high water input (60 mm) just after flumeturon application on herbicide efficacy in unamended and SW-SPERM-1% amended soils.

herbicide efficacy compared to that in the unamended soil pots, thus illustrating how the reduced mobility of the herbicide in the amended soil not only mitigated the risk of groundwater contamination but also improved the efficacy of the herbicide in the worst-case scenario of heavy rainfall event shortly after herbicide application.

In summary, the results of this work show that amendment of soils with organoclays can be a useful strategy to enhance soil retention capacity and retard the leaching of herbicides in agricultural soils. The reduced herbicide leaching in organoclay-amended soil not only mitigates the risk of groundwater contamination but also results in improved herbicide efficacy by reducing herbicide losses through transport processes. Modified clays can thus be suggested as soil amendments to optimize the behavior of pesticides in agricultural soils by increasing their efficacy and reducing the pesticide environmental impact.

ABBREVIATIONS USED

HPLC, high performance liquid chromatography; OCI, organoclay; CAR, L-carnitine; SPERM, spermine; HEXADIM, hexadimethrine; TYRAM, tyramine; PTMA, phenyltrimethylammonium; HDTMA, hexadecyltrimethylammonium; CEC, cation exchange capacity; SW-SPERM, spermine-exchanged Wyoming montmorillonite; SW-HDTMA, hexadecyltrimethylammonium-exchanged Wyoming montmorillonite; SA-HDTMA, hexadecyltrimethylammonium-exchanged Arizona montmorillonite; RF, retardation factor.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Gracia Facenda for her help in the preparation of some of the organoclays used in this work.

LITERATURE CITED

- (1) Hapeman, C. J.; McConnell, L. L.; Rice, C. P.; Sadeghi, A. M.; Schmidt, W. F.; McCarty, G. W.; Starr, J. L.; Rice, P. J.; Angier, J. T.; Harman-Fetcho, J. A. Current United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research on understanding agrochemical fate and transport to prevent and mitigate adverse environmental impacts. *Pest Manag. Sci.* **2003**, *59*, 681–690.
- (2) Rice, P. J.; Rice, P. J.; Arthur, E. L.; Barefoot, A. C. Advances in pesticide environmental fate and exposure assessments. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 5367–5376.
- (3) Hornsby, A. G. Site-specific pesticide recommendations: the final step in environmental impact prevention. *Weed Technol.* **1992**, *6*, 736–742.
- (4) Chachalis, D.; Galanis, M. Weed control and cotton response to combinations of acetochlor with flumeturon. *J. Food. Agric. Environ.* **2007**, *5*, 198–201.
- (5) Trigo, C.; Celis, R.; Hermosin, M. C.; Cornejo, J. Organoclay-based formulations to reduce the environmental impact of the herbicide diuron in olive groves. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **2009**, *73*, 1652–1657.
- (6) Celis, R.; Trigo, C.; Facenda, G.; Hermosin, M. C.; Cornejo, J. Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 6650–6658.
- (7) Baskaran, S.; Kennedy, I. R. Sorption and desorption kinetics of diuron, flumeturon, prometryn and pyriothiac sodium in soils. *J. Environ. Sci. Health* **1999**, *B34*, 943–963.
- (8) Zablutowicz, R. M.; Locke, M. A.; Gaston, L. A.; Bryson, C. T. Interactions of tillage and soil depth on flumeturon degradation in a Dundee silt loam soil. *Soil Tillage Res.* **2000**, *57*, 61–68.
- (9) Gaston, L. A.; Boquet, D. J.; Bosch, M. A. Flumeturon sorption and degradation in cores of silt loam soil from different tillage and cover crop systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **2003**, *67*, 747–755.
- (10) Locke, M. A.; Zablutowicz, R. M.; Steinriede, R. W.; Kingery, W. L. Degradation and sorption of flumeturon and metabolites in conservation tillage soils. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 844–851.
- (11) Mueller, T. C.; Moorman, T. B.; Snipes, C. E. Effect of concentration, sorption, and microbial biomass on degradation of the herbicide flumeturon in surface and subsurface soils. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 2517–2522.
- (12) Weaver, M. A.; Zablutowicz, R. M.; Locke, M. A. Laboratory assessment of atrazine and flumeturon degradation in soils from a constructed wetland. *Chemosphere* **2004**, *57*, 853–862.
- (13) Halladja, S.; Amine-Khodja, A.; ter Halle, A.; Boulkamh, A.; Richard, C. Photolysis of flumeturon in the presence of natural water constituents. *Chemosphere* **2007**, *69*, 1647–1654.
- (14) Wagner, S. C.; Zablutowicz, R. M. Effect of organic amendments on the bioremediation of cyanazine and flumeturon in soil. *J. Environ. Sci. Health* **1997**, *B32*, 37–54.
- (15) Zhao, J.; Wilkins, M. Controlled release of the herbicide, flumeturon, from matrix granules based on fractionated organosolv lignins. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4023–4028.
- (16) Jaynes, W. F.; Boyd, S. A. Clay mineral type and organic compound sorption by hexadecyltrimethylammonium exchanged clays. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1991**, *55*, 43–48.
- (17) Laird, D. A. Interactions between Atrazine and Smectite Surfaces. In *Herbicide Metabolites in Surface Water and Ground Water*; Meyer, M. T., Thurman, E. M., Eds.; ACS Symposium Series 630; American Chemical Society: Washington, DC, 1996; pp 86–100.
- (18) Lagaly, G. Pesticide-clay interactions and formulations. *Appl. Clay Sci.* **2001**, *18*, 205–209.
- (19) Cornejo, J.; Celis, R.; Pavlovic, I.; Ulibarri, M. A. Interactions of pesticides with clays and layered double hydroxides: a review. *Clay Miner.* **2008**, *43*, 155–176.
- (20) Boyd, S. A.; Shaobai, S.; Lee, J. F.; Mortland, M. M. Pentachlorophenol sorption by organo-clays. *Clays Clay Miner.* **1988**, *36*, 125–130.

Article

- (21) Groisman, L.; Rav-Acha, C.; Gerstl, Z.; Mingelgrin, U. Sorption of organic compounds of varying hydrophobicities from water and industrial wastewater by long- and short-chain organoclays. *Appl. Clay Sci.* **2004**, *24*, 159–166.
- (22) Cruz-Guzmán, M.; Celis, R.; Hermosín, M. C.; Cornejo, J. Adsorption of the herbicide simazine by montmorillonite modified with natural organic cations. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38*, 180–186.
- (23) Cruz-Guzmán, M.; Celis, R.; Hermosín, M. C.; Koskinen, W. C.; Cornejo, J. Adsorption of pesticides from water by functionalized organobentonites. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 7502–7511.
- (24) Cornejo, L.; Celis, R.; Domínguez, C.; Hermosín, M. C.; Cornejo, J. Use of modified montmorillonites to reduce herbicide leaching in sports turf surfaces: laboratory and field experiments. *Appl. Clay Sci.* **2008**, *42*, 284–291.
- (25) Camacho-Muñoz, D.; Martín, J.; Santos, J. L.; Aparicio, I.; Alonso, E. An affordable method for the simultaneous determination of the most studied pharmaceutical compounds as wastewater and surface water pollutants. *J. Sep. Sci.* **2009**, *32*, 3064–3073.
- (26) Barriuso, E.; Laird, D. A.; Koskinen, W. C.; Dowdy, R. H. Atrazine desorption from smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1994**, *58*, 1632–1638.
- (27) Rodríguez-Cruz, M. S.; Sánchez-Martín, M. J.; Andrades, M. S.; Sánchez-Camazano, M. Modification of clay barriers with a cationic surfactant to improve the retention of pesticides in soils. *J. Hazard. Mater.* **2007**, *B139*, 363–372.
- (28) Celis, R.; Barriuso, E.; Houot, S. Effect of liquid sewage sludge addition on atrazine sorption and desorption by soil. *Chemosphere* **1998**, *37*, 1091–1107.
- (29) Kearney, P. C.; Shelton, D. R.; Koskinen, W. C. Soil Chemistry of Pesticides. In *Encyclopedia of Chemical Technology*, 4th ed.; Howe-Grant, M., Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1997; pp 419–451.
- (30) Bozarth, G. A.; Funderburk, H. H., Jr. Degradation of fluometuron in sandy loam soil. *Weed Sci.* **1971**, *19*, 691–695.
- (31) Lancaster, S. H.; Haney, R. L.; Senseman, S. A.; Kenerley, C. M.; Hons, F. M. Microbial degradation of fluometuron is influenced by Roundup WeatherMAX. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 8588–8593.
- (32) Cox, L.; Walker, A.; Welch, S. J. Evidence for accelerated degradation of isoproturon in soils. *Pestic. Sci.* **1996**, *48*, 253–260.
- (33) Flores-Céspedes, F.; González-Pradas, E.; Fernández-Pérez, M.; Villafranca-Sánchez, M. Effects of dissolved organic carbon on sorption and mobility of imidacloprid in soil. *J. Environ. Qual.* **2002**, *31*, 880–888.
- (34) Rao, P. S. C.; Hornsby, A. G.; Jessup, R. E. Indices for ranking the potential for pesticide contamination of groundwater. *Proc. Soil Crop Sci. Soc. Fla.* **1985**, *44*, 1–8.
- (35) Voudrias, E. A. The concept of a sorption chemical barrier for improving effectiveness of landfill liners. *Waste Manag. Res.* **2002**, *20*, 251–258.

Received for review February 24, 2010. Revised manuscript received May 17, 2010. Accepted May 24, 2010. This work has been financed through the projects P07-AGR-03077 (Junta de Andalucía) and AGL2008-04031-C02-01 (Spanish Ministry of Science and Innovation). B.G. also thanks Junta de Andalucía for her FPI fellowship.

Soil Clay Modification with Spermine and Its Effect on the Behavior of the Herbicide Fluometuron

B. Gámiz

R. Celis*

M. C. Hermosín

J. Cornejo

Instituto de Recursos Naturales y
Agrobiología de Sevilla (IRNAS)
CSIC
Avenida Reina Mercedes 10
P.O. Box 1052
41080 Sevilla, Spain

Research on organoclays as sorbents of pesticides has shown the usefulness of these materials both as soil amendments and as pesticide supports, to prolong the efficacy and reduce the environmental impact of soil-applied pesticides. Organoclays can also be formed in situ by direct modification of smectite-rich soil clays through treatment with appropriate organic cations. In this work, laboratory experiments were conducted to investigate the effect of the addition to soil of a natural organic cation, spermine, on sorption (batch equilibration procedure), persistence (incubation experiments), and leaching (column experiments) of the herbicide fluometuron. Four soils differing in their clay contents and mineralogy were used. A sevenfold increase in the fluometuron sorption distribution coefficient, K_d , by the presence of spermine was observed for a clay soil rich in smectites (Soil 1), whereas the effect on fluometuron sorption was negligible for a soil with similar clay texture but lacking smectites (Soil 4) and for a loamy sand soil with very low content in smectites (Soil 3). A sandy loam soil (Soil 2) with moderate smectite content had an intermediate behavior. The increase in fluometuron sorption was thus related to the smectite content of the soils, strongly indicating that reaction of spermine with soil smectites formed in situ an organoclay complex with high affinity for fluometuron. The simultaneous application of fluometuron and spermine to the smectite-rich soil retarded the leaching of the herbicide but, at the same time, increased the total amount of fluometuron leached from 25 to 52%. This was attributed to the fact that spermine, apart from increasing sorption, also prolonged the persistence of fluometuron in the smectite-rich soil. In contrast, the presence of spermine had no effect on the leaching pattern of fluometuron in the clay soil lacking smectites. The results indicated that the application of suitable organic cations to smectitic soils can be a useful strategy to control pesticide retention and persistence in the soil environment.

Abbreviations: BTC, breakthrough curve; CEC, cation exchange capacity; HPLC, high performance liquid chromatography; LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantification; Mg-EG, magnesium-saturated samples solvated with ethylene glycol; RF, retardation factor.

The widespread use of pesticides in modern agricultural production and other activities has resulted in increasing levels of pesticide residues in natural ecosystems, thus becoming an important environmental problem.

One main problem of pesticide use relates to the large transport losses that usually affect pesticides applied to agricultural land, which cause offsite movement of the pesticide and diffuse contamination of soil and water systems. In this context, there is a need to develop efficient strategies to prevent and mitigate soil and water contamination by pesticides, and particularly to reduce pesticide mobility in the environment (Hapeman et al., 2003).

Soil Sci. Soc. Am. J. 76:2012

Posted online 27 Jan. 2012

doi:10.2136/sssaj2011.0197

Received 2 June 2011.

*Corresponding author (rcelis@irnase.csic.es).

© Soil Science Society of America, 5585 Guilford Rd., Madison WI 53711 USA

All rights reserved. No part of this periodical may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher. Permission for printing and for reprinting the material contained herein has been obtained by the publisher.

Organoclays, that is, natural clay minerals with their original inorganic exchangeable cations replaced with organic cations, have been proven to be very good sorbents for different classes of pesticides and, accordingly, have been proposed to prevent and remediate environmental contamination by pesticides (Hermosín et al., 1992; Brixie and Boyd, 1994; Prost and Yaron, 2001; Cornejo et al., 2008). Research on organoclays as sorbents of pesticides has shown the usefulness of these materials both as soil amendments and as pesticide supports, to prolong the efficacy of soil-applied pesticides and to reduce the large transport losses that usually affect pesticides applied in an immediately available form (Carrizosa et al., 2000; El-Nahhal et al., 2001; Trigo et al., 2009; Undabeytia et al., 2010; Gámiz et al., 2010). An alternative approach is the in situ formation of organoclay complexes by direct modification of smectite-rich soil clays through treatment with appropriate organic cations. For instance, it has been shown that the addition of alkylammonium cations to soils can enhance the retention of organic pollutants and reduce their leaching through the soil profile (Boyd et al., 1988; Lee et al., 1989; Sánchez et al., 2003; Rodríguez-Cruz et al., 2007). Nevertheless, the existing information on the effects of specific organic cations as soil modifiers on pesticide behavior is still scarce. This is particularly true for naturally-occurring organic cations, since research on organoclays as sorbents of pesticides has focused on synthetic, alkylammonium-type cations of the general form $[(CH_3)_3NR]^+$ or $[(CH_3)_2NR_2]^+$, where R is an aromatic or aliphatic hydrocarbon (Cruz-Guzmán et al., 2004). The use of natural organic cations for clay mineral modification has been stressed as particularly interesting to reduce concern about incorporation of these materials into soil and aquatic environments for practical applications (Cruz-Guzmán et al., 2004; Celis et al., 2007).

Fluometuron (Fig. 1) is a pre- and early postemergence phenylurea herbicide widely used for controlling annual grasses and broad-leaved weeds mainly in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and olive (*Olea europaea* L.) groves at 1 to 2 kg ha⁻¹. It has a molecular weight of 232.2 g mol⁻¹ and a water solubility of 105 mg L⁻¹ at 20°C (Worthing and Hance, 1991). Fluometuron sorption in soil has been related primarily to the soil organic matter content (Savage and Wauchop, 1974; Mueller et al., 1992). In southern Spain and other regions of the world, cotton and olive crops represent high-risk scenarios of ground and surface water contamination by herbicides; soil properties and climatic conditions favor herbicide leaching and runoff processes and it

is therefore important to develop strategies directed to optimize herbicide efficacy and prevent water pollution (Mueller et al., 1992; Trigo et al., 2009; Gámiz et al., 2010; Locke et al., 2011).

In previous laboratory experiments, we found that the modification of reference smectites (SWy-2 and SAz-1) with the naturally-occurring organic cation *spermine* (Fig. 1) resulted in organoclays with very high affinity for phenylurea herbicides, including fluometuron (Celis et al., 2007; Gámiz et al., 2010). Spermine-exchanged reference smectites were efficient both as soil amendments, to increase the soil retention capacity for such herbicides, and also as herbicide supports, for the development of herbicide slow release formulations (Trigo et al., 2009; Gámiz et al., 2010). The objective of the present work was to investigate the effects of spermine addition to natural soils on sorption, persistence, and leaching of the herbicide fluometuron, and to relate such effects to the soil clay mineralogy. Our hypothesis was that spermine cations should react with soil smectites, increasing the soil retention capacity and retarding herbicide leaching, that is, a sort of "in situ" slow release formulation could be formed in soils by the simultaneous application of the herbicide and spermine. Four soils with different clay contents and mineralogy were selected, characterized, and the influence of spermine on fluometuron behavior (sorption, persistence, and leaching) in the soils assessed by batch sorption, incubation, and column leaching tests.

MATERIALS AND METHODS

Herbicide, Organic Cation, and Soils

Pure analytical fluometuron (purity = 99.5%) purchased from Sigma-Aldrich (Spain) was used to prepare the external standards for fluometuron analysis and the initial solutions used in the batch sorption experiments. Commercial fluometuron (Dinagam Linz, 50% suspension concentrate) supplied by Bayer (Spain) was used in the persistence and column-leaching experiments.

Spermine (Fig. 1) was supplied as a high-purity tetrachloride salt by Sigma-Aldrich (Spain). Spermine is a naturally-occurring polyamine with four pK_a values which lie in the interval 8 to 11 (Frassinetti et al., 1995). Accordingly, the fully protonated form of spermine is supposed to predominate under acidic, neutral, and slightly basic conditions.

Four agricultural soils from Seville (southwest Spain) were used in this study. The soils were selected on the basis of their different clay contents and mineralogy, which resulted in a range of smectite contents in the whole soils. Soil 1 was sampled from a cotton area that had received repeated applications of fluometuron for years as an agricultural practice, although the soil sample used in this study contained no detectable background concentration of fluometuron. Soils 2, 3, and 4 were sampled, respectively, from olive-, cereal-, and citrus-growing plots and had no history of previous applications of fluometuron. All four soils were sampled from the top 0 to 20 cm layer, air-dried, and sieved (2 mm), before use.

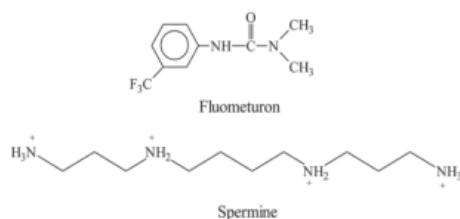


Fig. 1. Molecular structures of fluometuron and spermine.

Soil Characterization

The texture of the soils was determined by the hydrometer method (Klute, 1986). The organic carbon contents were determined by dichromate oxidation, the carbonate contents by the pressure calcimeter method, and the cation exchange capacities (CEC) by the 1 M ammonium acetate method (Jackson, 1975; Sparks, 1996). Soil pH values were measured in 1:2.5 soil:1 M KCl aqueous suspensions. The variability associated with the measured soil properties was <10%.

A detailed characterization of the pore size distribution of the soils and of their clay mineralogy was also performed. The soil pore-size distributions (from 40 to 0.004 μm) were determined by mercury intrusion porosimetry using a Carlo Erba 2000 mercury intrusion porosimeter. A soil core of approximately 1 g was sampled and dried at 90°C for 24 h before the porosity analysis. A value for the surface tension of mercury of $\gamma = 0.48 \text{ N m}^{-1}$ and a mercury solid contact angle of $\theta = 171.3^\circ$ were assumed to use the Washburn (1921) equation for the calculation of the pore size distributions.

Carbonates were removed from the soils by treatment with ammonium acetate/acetic acid buffer (pH = 5) before separating the soil clay (<2 μm) fractions by sedimentation for subsequent mineralogical analysis. The amounts of amorphous Fe and Al in the soil clays were determined by oxalate extraction (McKeague and Day, 1966), whereas the phyllosilicate mineralogy was determined by X-ray diffraction analysis on oriented specimens of Mg^{2+} - and K^+ -saturated clay samples, solvated with liquid ethylene glycol (EG) and calcined at 550°C, respectively (Brown, 1961). X-ray diffractograms were obtained in a D-5000 diffractometer (Siemens, Stuttgart) using $\text{CuK}\alpha$ radiation.

Sorption Experiments

The effect of spermine on fluometuron sorption by the different soils was determined by the batch equilibration procedure using glass centrifuge tubes and a single herbicide initial concentration $C_{\text{ini}} = 1 \text{ mg L}^{-1}$. This concentration was selected for being representative of field concentrations of fluometuron applied at 1 to 2 kg ha^{-1} . Triplicate 4-g soil aliquots were equilibrated by shaking for 24 h at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ with 8 mL of aqueous solutions of fluometuron (1 mg L^{-1}), also containing an amount of spermine tetrahydrochloride corresponding to 0, 1, 5, 10, 25 or 100% of the CEC of the 4-g soil aliquot. After equilibration, the suspensions were centrifuged and 4 mL of the supernatant solution was removed, filtered using a glass fiber filter (pore diameter = 0.45 μm), and analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) to determine the equilibrium concentration, C_e (mg L^{-1}), of fluometuron. The amount of fluometuron sorbed by the soils, C_s (mg kg^{-1}), was calculated from the difference between the initial (C_{ini}) and equilibrium (C_e) solution concentrations. A 1 mg L^{-1} fluometuron solution without soil was also shaken for 24 h and served as a control to rule out the possibility that processes other than sorption to the soils contributed to the decrease in the fluometuron solution concentration during the 24 h equilibration. The percentage of fluometuron sorbed (% Sorbed)

for the initial herbicide concentration of 1 mg L^{-1} was calculated by using the following formula: % Sorbed = $[(C_{\text{ini}} - C_e)/C_{\text{ini}}] \times 100$, whereas sorption distribution coefficients, K_d (L kg^{-1}) were calculated as $K_d = C_s/C_e$. Previous work reported linear sorption of fluometuron on soils at herbicide concentrations around 1 mg L^{-1} and that 24 h was sufficient to reach the soil sorption equilibrium for fluometuron (Rankins et al., 2002).

Column Leaching Experiment

Leaching was studied in 30 cm length \times 3.1 cm internal diameter glass columns filled with 160 g (20 cm) of soil (Soils 1 and 4), following a procedure similar to that described in Gámiz et al. (2010). The soil columns were saturated with deionized water and allowed to drain for 24 h. The calculated pore volume of the columns after saturation was $63 \pm 1 \text{ mL}$ for both soils. Once saturated, 6 mL of an aqueous solution containing 0.15 mg of commercial fluometuron, active ingredient (a.i.), was applied to the top of triplicate soil columns to give an herbicide application rate of 2 kg a.i. ha^{-1} . The fluometuron solution added also contained the amount of spermine tetrahydrochloride needed to compensate the CEC of the amount of soil (20 g) present in the top 0 to 2.5 cm of the column. Daily, 15 mL of deionized water were added to the top of the columns, the leachates were collected, and the concentration of fluometuron was determined by HPLC. Breakthrough curves (BTCs) of fluometuron in Soils 1 and 4 were thus obtained and compared with those obtained with control soil columns treated identically but without spermine addition. At the end of the leaching experiment, the soil columns were extracted with methanol to determine the residual amount of fluometuron (Gámiz et al., 2010). All leaching experiments were conducted in triplicate.

The position of the maximum concentration peaks of the BTCs was compared with the predicted retardation factor (RF) calculated assuming linear, instantaneous, and reversible sorption conditions using the following equation (Rao et al., 1985):

$$\text{RF} = 1 + (\rho/\theta) K_d \quad [1]$$

In Eq. [1], ρ is the bulk density of the soil column (g cm^{-3}); θ is the soil column volumetric water content ($\text{cm}^3 \text{ cm}^{-3}$) and K_d (L kg^{-1}) is the sorption distribution coefficient for the herbicide in the soil column. The K_d values measured in the batch sorption experiments were assumed for the calculation of the RF values using Eq. [1]. The RF value represents the number of pore volumes at which the maximum concentration of the herbicide is expected to appear in leachates (Flores-Céspedes et al., 2002).

Incubation Experiment

The effect of spermine on fluometuron dissipation in Soil 1 was determined by means of an incubation experiment in which a portion of 100 g of soil was spiked with commercial fluometuron at a rate of 2 mg a.i. kg^{-1} . The aqueous solution of fluometuron (40 mL) used to spike the soil contained either no spermine or the amount of spermine tetrahydrochloride (3.6 g) needed

to compensate 100% of the CEC of the 100-g soil aliquot. The spiked soil samples were incubated in glass jars at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ for 40 d. The moisture content of the soil was maintained at a constant level ($\sim 30\%$) throughout the experiment by adding distilled water as necessary. Twice a week, triplicate 3-g soil aliquots were sampled using a sterilized spatula and frozen immediately until analyzed. Fluometuron residues in the 3-g soil aliquots were determined by extraction with 8 mL of methanol (24 h shaking), followed by centrifugation and analysis of the supernatant by HPLC. Preliminary experiments had shown that this extraction procedure recovered $>95\%$ of the fluometuron freshly applied to the soils (Gámiz et al., 2010). Differences between the amount of fluometuron added to the soil and the amounts extracted with methanol were assumed to be due to degradation and/or formation of strongly-bound herbicide residues (Albarrán et al., 2003).

Analysis of Fluometuron

Fluometuron was determined by HPLC using a Waters 600E chromatograph coupled to a Waters 996 diode-array detector. Details on the chromatographic conditions used for the analysis can be found in Gámiz et al. (2010). Instrumental limit of detection (LOD) was calculated as the lowest observable concentration giving a signal-to-noise (S/N) ratio of 3:1, while instrumental limit of quantification (LOQ) was calculated as the concentration resulting in an S/N ratio of 10:1 (Gámiz et al., 2010). The LOD and LOQ were 0.01 mg L^{-1} and 0.03 mg L^{-1} , respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

Soil Characterization

Relevant physicochemical characteristics of the soils used in this study are given in Table 1. The soils had similar pH (7.0–7.4) and low organic C contents (0.52–1.10%), the latter being a typical characteristic of soils from Mediterranean regions. The carbonate content was high for Soil 1, moderate for Soil 3, and low for Soils 2 and 4. The cation exchange capacity (CEC) ranged from 15 to $42 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ and was found to be highly correlated with the clay content of the soils ($r = 0.996$, $P < 0.01$).

Figure 2 shows the pore-size distribution of the soils in the range from 40 to $0.004 \mu\text{m}$, determined by mercury intrusion porosimetry. Bars indicate the contribution of the corresponding pore-radius interval to the cumulative volume. In agreement with previous work, the mercury pore-size distributions were closely related to soil texture (Cox et al., 1994; Chung and Alexander, 1999; Aichberger et al., 2006). Pores with radii larger than $10 \mu\text{m}$ predominated in Soils 2 and 3, thus reflecting the coarse texture of these soils (Table 1). In contrast, medium- to small-sized pores

predominated in Soils 1 and 4 (Fig. 2). These pores probably resulted from aggregation of fine silt and clay particles, which clearly predominated in Soils 1 and 4 (Table 1).

The X-ray diffraction patterns of oriented specimens of Mg^{2+} - and K^+ -saturated soil clay ($<2 \mu\text{m}$) fractions are given in Fig. 3. The X-ray diffractograms revealed that phyllosilicates dominated the soil clay fractions. The absence of any diffraction peak near 14 \AA in the Mg-saturated samples solvated with ethylene glycol (Mg-EG) and in the K-saturated samples calcined at 550°C (K-550°C) indicated absence of chlorite in the soil clay samples (White and Dixon, 2003; Calvaruso et al., 2009). Consequently, the diffractions at 17 \AA , 10 \AA , and 7 \AA in the Mg-EG diffractograms (Fig. 3) were attributed to the (001) reflections of smectite-, illite- (or mica-), and kaolinite-type phyllosilicates, respectively. The additional diffractions at 5.00 \AA ($\sim 18^\circ 2\theta$) and 3.33 \AA ($\sim 27^\circ 2\theta$) were attributed to the (002) and (003) illite reflections, whereas that at 3.57 \AA ($\sim 25^\circ 2\theta$) was attributed to the (002) kaolinite reflection. It should be noted that although the (101) reflection of quartz could have contributed to the diffraction peak at 3.33 \AA , the very low intensity of the (100) quartz reflection at 4.26 \AA ($\sim 21^\circ 2\theta$) observed in all diffractograms indicated low amounts of quartz in the soil clay samples. The contents in smectite, illite, and kaolinite of the soil clay fractions (Table 2) were semiquantitatively estimated from the areas of the 17 \AA , 10 \AA , and 7 \AA diffraction peaks once normalized to the corresponding intensity factors of oriented specimens of the EG-solvated minerals, which were assumed to be 2 for smectite, 0.5 for illite, and 1 for kaolinite (Galán and Espinosa, 1974). It was assumed that these phyllosilicates contributed to 100% of the clay fraction of the soils (Kahle et al., 2002). This assumption was based on the lack of significant diffraction peaks corresponding to other crystalline phases in the diffractograms (Fig. 3) and the low content of the soils in relevant amorphous materials, such as organic matter and amorphous metal oxides. In this regard, oxalate-extraction indicated that amorphous Fe and Al accounted for $<2\%$ of the soil clay fractions.

The phyllosilicate content in the whole soils, also included in Table 2, was calculated from the composition of the soil clay fractions and the clay content of each soil. Despite smectites predominating in the clay fractions of Soils 2 and 3, a low clay content resulted in moderate to low smectite contents in the whole soils. In the case of the clay soils, Soil 1 contained 17% smectitic minerals, whereas the absence of any diffraction peak at 17 \AA in the Mg-EG diffractogram indicated lack of smectites in Soil 4. Thus, the different clay contents and mineralogy of the soils resulted in a range of smectite contents, which decreased in the following order: soil 1 (17%) > soil 2 (10%) > soil 3 (3%) > soil 4 (0%).

Table 1. Physicochemical characteristics of the soils used.

Soil	Texture	Sand	Silt	Clay	CaCO_3	Organic C	CEC	pH
		%					$\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$	
Soil 1	Clay	7	34	59	17.2	0.73	42	7.2
Soil 2	Sandy loam	73	8	19	1.0	0.52	20	7.2
Soil 3	Loamy sand	83	7	10	6.5	0.54	15	7.4
Soil 4	Clay	22	33	45	2.8	1.10	32	7.0

Effect of Spermine on Fluometuron Sorption by the Soils

Figure 4 shows the percentage of fluometuron sorbed by the soils at a single herbicide concentration of 1 mg L^{-1} either in the absence of spermine or in the presence of an amount of spermine equal to the

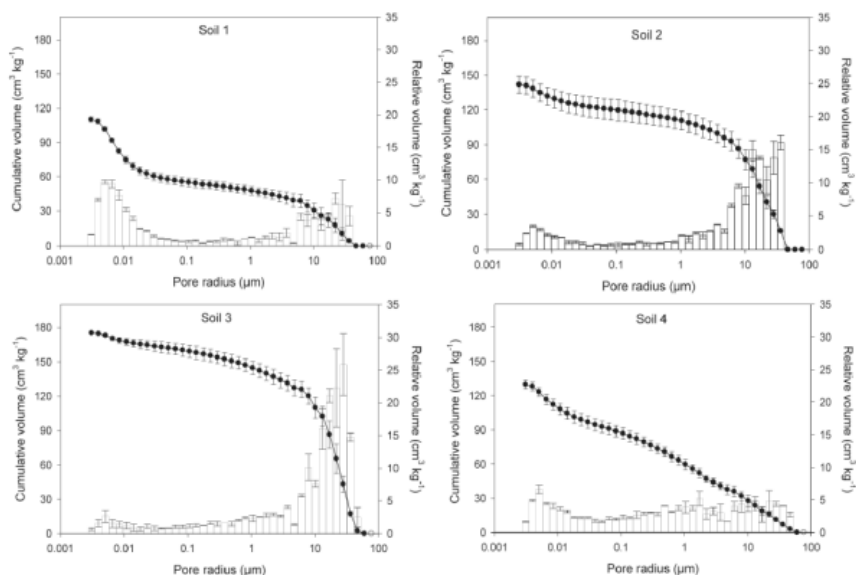


Fig. 2. Relative (bars) and cumulative (curves) pore-size distributions of the soils determined by mercury intrusion porosimetry. Error bars correspond to the standard error of triplicate measurements.

CEC of each soil. The corresponding sorption distribution coefficients, $K_d (= C_s/C_e)$, are summarized in Table 3. In the absence of spermine, fluometuron sorption by Soils 1 and 4 was considerably greater than that by Soils 2 and 3, most likely as a result of their greater clay and organic C contents (Table 1). Predominance of small-sized pores (Fig. 2) could have also contributed to enhance the herbicide sorption process in Soils 1 and 4 (Cox et al., 1994). Upon spermine addition, a great increase in fluometuron sorption was observed for the clay soil rich in smectites (Soil 1), whereas this effect was very small for the clay soil lacking smectites (Soil 4) and also for the loamy sand soil (Soil 3), with very low smectite content (Fig. 4, Table 3). The sandy loam soil (Soil 2), with moderate smectite content, had an intermediate behavior. The increase in fluometuron sorption on spermine addition was thus clearly related to the smectite content of the soils, decreasing in the following order: soil 1 > soil 2 > soil 3 ≈ soil 4 (Fig. 4, Table 3).

Previous work has shown that modification of reference smectites with spermine cations leads to interlayer organoclay complexes with selective affinities for phenylurea herbicides such as diuron and fluometuron (Celis et al., 2007; Gámiz et al., 2010). It appears that the sorption mechanism may involve (i) hydrogen bonding between the C = O group of the herbicide and the $\text{NH}_3^+/\text{NH}_2^+$ groups of spermine and (ii) hydrophobic interactions between the herbicide and the alkyl chains of spermine (Celis et al., 2007). The surface charge density of the clay mineral and the amount of intercalated spermine appeared to be important factors determining the sorption of diuron and fluometuron by spermine-modified reference smectites, mainly

because such variables determine the space available for herbicide sorption within the organoclay structure (Jaynes and Boyd, 1991; Celis et al., 2007; Gámiz et al., 2010). The results reported in Fig. 4 and Table 3 show that the presence of spermine enhanced fluometuron sorption also in natural soils, and strongly indicate that this effect was directly related to the presence of expandable (smectitic) clay minerals. As an example, the distribution coefficient, K_d , for fluometuron sorption on Soil 1 (containing 17% smectites) increased by a factor of 7.6 by the presence of spermine, whereas an increase in the K_d value as small as 10% was measured for Soils 3 and 4, which contained <5% smectites (Table 2). This small increase in the K_d value measured for Soils 3 and 4 could be attributed to the small amount of smectites present in Soil 3 or the presence of some active illitic minerals in Soil 4 (Table 2).

Fluometuron sorption as a function of the amount of spermine added to Soil 1 was also determined and the results reported in Fig. 5. Fluometuron sorption by Soil 1 steadily increased with the amount of spermine added up to an amount of spermine corresponding to 25% of the CEC of the soil. Further addition of spermine did not result in additional sorption of fluometuron. Previous work has shown that increasing the amount of organic cation up to the CEC of clay minerals increases the hydrophobicity of the clay mineral surface, but a maximum transformation from hydrophilic to hydrophobic does not always result in a maximum sorption of hydrophobic organic compounds (Carrizosa et al., 2000; Nir et al., 2000; El-Nahhal et al., 1998, 2001; Cruz-Guzmán et al., 2004; Cornejo et al., 2008). Clogging of the interlayer space as a result of large organic cation loadings

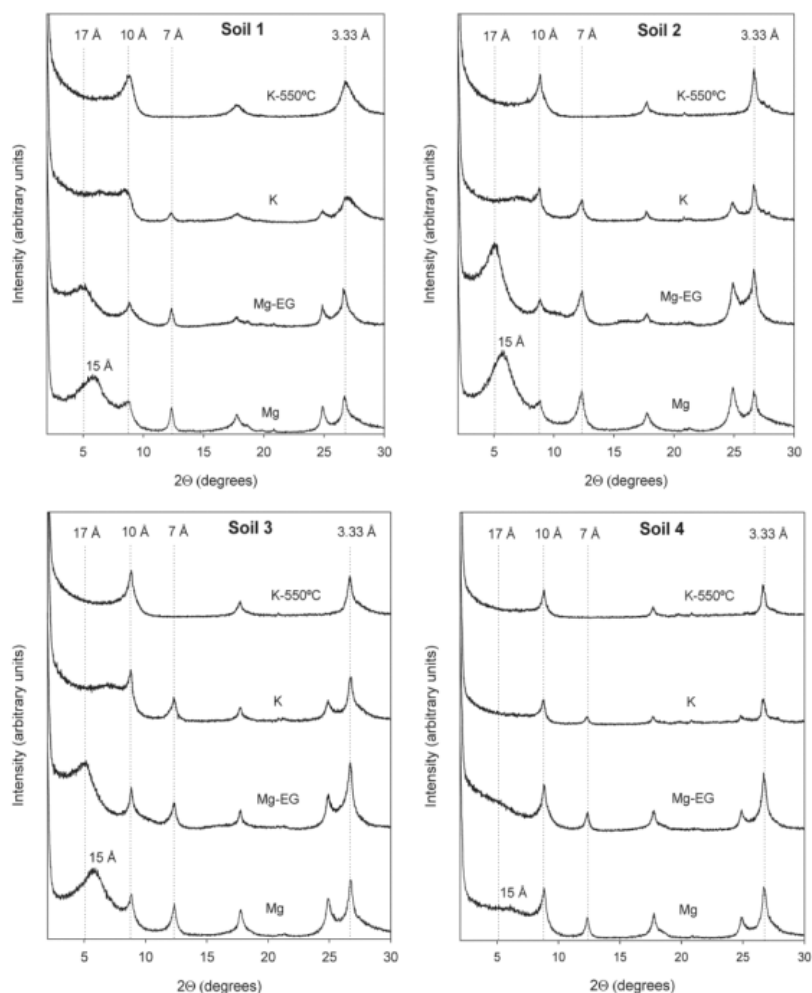


Fig. 3. X-ray diffractograms of oriented specimens of soil clay fractions: Mg^{2+} -saturated (Mg), Mg^{2+} -saturated followed by solvation with ethylene glycol (Mg-EG), K^+ -saturated (K), and K^+ -saturated, then calcined at 550°C (K- 550°C).

can give structures which preclude access to the sorption sites (Nir et al., 2000; Cornejo et al., 2008). A similar phenomenon may have operated in Soil 1, since the amount of fluometuron

Table 2. Smectite, illite, and kaolinite contents of the soil clay fractions and the whole soils.

Soil	Soil clay (<2 μm) fraction			Whole soil		
	Smectite	Illite	Kaolinite	Smectite	Illite	Kaolinite
	%					
Soil 1	28	57	15	17	34	9
Soil 2	52	19	29	10	4	6
Soil 3	34	46	20	3	5	2
Soil 4	0	88	12	0	40	5

sorbed on soil treated with spermine cations at a loading of 25% of the soil CEC was similar to that on soil treated with spermine at a loading up to the CEC (Fig. 5). In addition, the possibility exists that not all the cation exchange sites in soil were accessible for spermine cations or that spermine interaction with soil components different from smectites, such as metal oxides or organic matter, produced no effect on fluometuron sorption.

Leaching and Persistence Experiments

Soils 1 and 4 were selected for leaching experiments because, having similar clay textures, their responses to spermine addition with regard to fluometuron sorption were markedly different, as

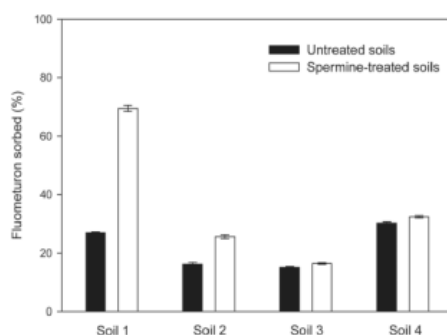


Fig. 4. Percentages of fluometuron sorbed by the soils in the absence of spermine and in the presence of an amount of spermine equal to the CEC of each soil. The experiment was conducted at an initial fluometuron concentration 1 mg L^{-1} and a soil/solution ratio 4 g:8 mL .

a result of their different smectite contents (Fig. 4, Table 2). For the untreated soils, fluometuron concentrations in leachates of Soil 4 were considerably greater than those measured in leachates of Soil 1, but the maximum concentration of fluometuron appeared at 195 mL of water added (3.1 pore volumes) for both soils (Fig. 6). This result was in accordance with the expected RF for fluometuron in Soils 1 and 4, calculated using Eq. [1], which were 2.9 (183 mL water added) for soil 1 and 3.2 (202 mL water added) for Soil 4 (Table 3). Thus, linear, instantaneous, and reversible sorption conditions described well the movement of fluometuron in the soil columns.

For untreated soils, fluometuron BTCs also revealed a marked difference in the individual leachate concentrations and in turn in the total amount of herbicide leached from Soils 1 and 4. Most fluometuron (>90%) added to Soil 4 was recovered in leachates, whereas the total amount of herbicide leached from Soil 1 accounted for only 25% of the herbicide applied to the soil column (Fig. 6). The amount of herbicide extracted from Soil 1 at the end of the column leaching experiment was <5% of the amount applied, so that the fluometuron not recovered is likely to correspond to the degradation of the herbicide within the soil column and/or the formation of strongly bound herbicide residues. Taking into account that Soil 1 had received repeated applications of fluometuron for years as an agronomic practice for weed control, we believe that the small amount of herbicide leached is likely to be due to rapid degradation of fluometuron in this soil by adapted soil microorganisms (Cox et al., 1996).

When spermine was coapplied with fluometuron, herbicide leaching was retarded in Soil 1, whereas the effect was negligible in Soil 4 (Fig. 6). This result can be related to the distinct effect of spermine on the sorption of fluometuron by Soils 1 and 4 (Table 3). The position of the maximum concentration peak in the BTC of fluometuron in Soil 1 in the presence of spermine was centered at about 250 mL of water added (4.0 pore volumes). This value is close to the value of 275 mL ($\text{RF} = 4.4$) predicted by assuming that spermine interacted with the top 0- to 2.5-cm soil increasing the K_d value of soil 1 from 0.74 to 5.60 L kg^{-1} (Table

Table 3. Distribution coefficients, K_d , for fluometuron sorption on untreated and spermine-treated soils and predicted retardation factors (RF) for fluometuron leaching through soil columns calculated assuming linear, instantaneous, and reversible sorption conditions (Eq. [1]).

Soil	Untreated soil		Spermine-treated soil	
	K_d L kg^{-1}	RF	K_d^\dagger L kg^{-1}	RF^\ddagger
Soil 1	0.74 ± 0.15	2.9	5.60 ± 0.20	4.4
Soil 2	0.39 ± 0.02	2.0	0.69 ± 0.03	2.1
Soil 3	0.36 ± 0.01	1.9	0.39 ± 0.01	1.9
Soil 4	0.87 ± 0.02	3.2	0.96 ± 0.02	3.2

$^\dagger K_d$ values for soils treated with an amount of spermine equal to their cation exchange capacity (CEC).

‡ It was assumed that the spermine added reacted with the top 0 to 2.5 cm of the soil column.

\S Mean \pm standard error.

3). A similar calculation for Soil 4 predicted a negligible effect of spermine on the fluometuron RF value (Table 3).

An additional effect of spermine addition to Soil 1 was the increase in the total amount of fluometuron leached from 25 to 52% of the amount of herbicide applied to the soil column. This indicated the persistence of the herbicide could have been increased on spermine coapplication. A soil incubation experiment confirmed longer persistence of fluometuron in Soil 1 treated with spermine compared to the untreated soil (Fig. 7). The dissipation of fluometuron in spermine-free Soil 1 was rapid and the sigmoidal shape of the dissipation curve is typical of the degradation of compounds used as the microbial growth substrate (Gámiz et al., 2010). In the presence of spermine, the dissipation of fluometuron in Soil 1 was significantly retarded. Although the enhanced sorption could have protected the herbicide from degradation and/or formation of strongly-bound residues in soil, previous work has indicated that sorption of phenylurea herbicides on spermine-exchanged reference smectites is a reversible process and does not seem to reduce the bioavailability of the herbicide to soil microorganisms (Trigo et al., 2009; Gámiz et al., 2010). Alternatively, spermine cations could have acted as a readily available C and N source for such bacteria, retarding the degradation of the herbicide. Independent of the cause for the enhanced persistence of the herbicide, our results show that coapplication of spermine could be useful to prolong the persistence of fluometuron in soils where the herbicide is rapidly degraded, for instance due to previous repeated herbicide applications.

CONCLUSIONS

The reaction of organic cations with soil smectites can be useful as a strategy to control pesticide mobility and persistence in soils. The results of this work show that the presence of spermine enhances fluometuron sorption in smectite-containing soils, most likely because reaction between spermine cations and soil smectites forms *in situ* organoclay complexes with high affinity for the herbicide. Sorption experiments with four different soils revealed that the effect of spermine on fluometuron sorption depended on the smectite content of the soil and on the amount of sperm-

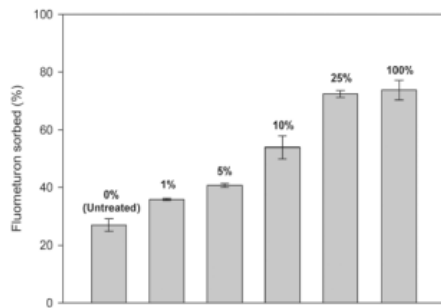


Fig. 5. Percentages of fluometuron sorbed by Soil 1 in the presence of an amount of spermine equal to 0, 1, 5, 10, 25, and 100% of the CEC of the soil. The experiment was conducted at an initial fluometuron concentration 1 mg L^{-1} and a soil/solution ratio 4 g:8 mL.

ine added. The increase in fluometuron sorption by spermine addition to a soil rich in smectites retarded the leaching of the herbicide through soil columns and, interestingly, also prolonged its soil persistence, whereas these effects were negligible for a soil lacking smectites. Therefore, the simultaneous application of fluometuron and spermine could be useful to enhance the herbicide retention process in soil, and

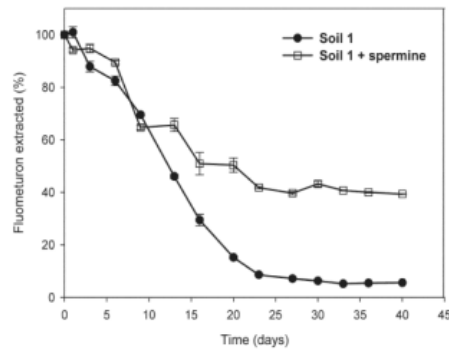


Fig. 7. Dissipation curves of fluometuron in Soil 1 in the absence and in the presence of spermine.

to prolong the persistence of the herbicide in scenarios where its rapid degradation could result in loss of herbicidal efficacy. Additional research would be needed to verify adequate weed control of the herbicide under simultaneous application with spermine and to assess potential side-effects of spermine on target and nontarget organisms.

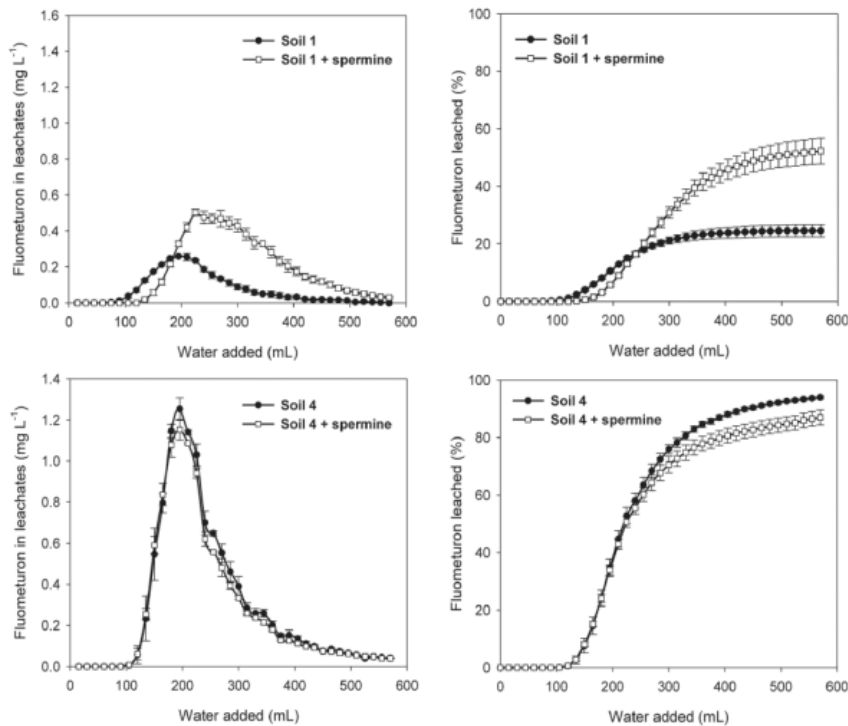


Fig. 6. Relative and cumulative breakthrough curves (BTCs) of fluometuron in Soils 1 and 4 in the absence and in the presence of spermine.

ACKNOWLEDGMENTS

This work has been financed by the Spanish Ministry of Science and Innovation (Project AGL2008-04031-C02-01) and Junta de Andalucía (Project P07-AGR-03077 and Research Group AGR-264), and cofinanced with FEDER-FSE funds (OP 2007-2013). The authors thank J. Cano and M. Real for their help with the soil characterization. B. Gámiz also thanks Junta de Andalucía for her FPI fellowship.

REFERENCES

- Aichberger, H., A.P. Loibner, R. Celis, R. Braun, F. Ortner, and H. Rost. 2006. Assessment of factors governing biodegradability of PAHs in three soils aged under field conditions. *Soil Sediment Contam.* 15:73–85. doi:10.1080/15320580500363129
- Albarrán, A., R. Celis, M.C. Hermosín, A. López-Piñero, J.J. Ortega-Calvo, and J. Cornejo. 2003. Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage.* 19:150–156. doi:10.1079/SUM2002185
- Boyd, S.A., J.F. Lee, and M.M. Mortland. 1988. Attenuating organic contaminant mobility by soil modification. *Nature (London)* 333:345–347. doi:10.1038/333345a0
- Britz, J.M., and S.A. Boyd. 1994. Treatment of contaminated soils with organoclays to reduce leachable pentachlorophenol. *J. Environ. Qual.* 23:1283–1290. doi:10.2134/jeq1994.00472425002300060023x
- Brown, G. 1961. The X-ray identification and crystal structures of clay minerals. Mineralogical Soc., London.
- Calvaruso, C., L. Mareschal, M.P. Turpault, and E. Leclerc. 2009. Rapid clay weathering in the rhizosphere of Norway spruce and oak in an acid forest ecosystem. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 73:331–338. doi:10.2136/sssaj2007.0400
- Carrizosa, M.J., M.J. Calderón, M.C. Hermosín, and J. Cornejo. 2000. Organoclay as sorbent and carrier of the herbicide bentazone. *Sci. Total Environ.* 247:285–293. doi:10.1016/S0048-9697(99)00498-2
- Celis, R., C. Trigo, G. Facenda, M.C. Hermosín, and J. Cornejo. 2007. Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves. *J. Agric. Food Chem.* 55:6650–6658. doi:10.1021/jf707079q
- Chung, N., and M. Alexander. 1999. Relationship between nanoporosity and other properties of soil. *Soil Sci.* 164:726–730. doi:10.1097/00010694-199910000-00003
- Cornejo, J., R. Celis, I. Pavlovic, and M.A. Ulibarri. 2008. Interactions of pesticides with clays and layered double hydroxides: A review. *Clay Miner.* 43:155–175. doi:10.1180/claymin.2008.043.2.01
- Cox, L., R. Celis, M.C. Hermosín, and J. Cornejo. 1994. Leaching patterns of pesticides as related to sorption and porosity properties of soils. 1325–1330. In *Proceedings of the BCPC Conference on Pests and Diseases*, Vol. 3, Brighton, UK. 21–24 Nov. 1994. British Crop Protection Council, Surrey, UK.
- Cox, L., A. Walker, and S.J. Welch. 1996. Evidence for accelerated degradation of isoproturon in soils. *Pestic. Sci.* 48:253–260. doi:10.1002/(SICI)1096-9063(199611)48:3<0.CO;2-V
- Cruz-Guzmán, M., R. Celis, M.C. Hermosín, and J. Cornejo. 2004. Adsorption of the herbicide simazine by montmorillonite modified with natural organic cations. *Environ. Sci. Technol.* 38:180–186. doi:10.1021/es030057w
- El-Nahal, Y., S. Nir, T. Polubasova, L. Margulies, and B. Rubin. 1998. Leaching, phytotoxicity, and weed control of new formulations of alachlor. *J. Agric. Food Chem.* 46:3305–3313. doi:10.1021/jf971062k
- El-Nahal, Y., S. Nir, C. Serban, O. Rabinovitz, and B. Rubin. 2001. Organoclay formulation of acetochlor for reduced movement in soil. *J. Agric. Food Chem.* 49:5364–5371. doi:10.1021/jf010561p
- Flores-Céspedes, F., E. González-Pradas, M. Fernández-Pérez, and M. Villafraña-Sánchez. 2002. Effects of dissolved organic carbon on sorption and mobility of imidacloprid in soil. *J. Environ. Qual.* 31:880–888. doi:10.2134/jeq2002.0880
- Frassinetti, C., S. Ghelli, P. Gans, A. Sabatini, M.S. Moruzzi, and A. Vacca. 1995. Nuclear magnetic resonance as a tool for determining protonation constants of natural polyprotic bases in solution. *Anal. Biochem.* 231:374–382. doi:10.1006/abio.1995.9984
- Galán, E., and J. Espinosa. 1974. El caolín en España: Características, identificación y ensayos cerámicos. Sociedad Española de Cerámica y Vidrio, Madrid.
- Gámiz, B., R. Celis, M.C. Hermosín, and J. Cornejo. 2010. Organoclays as soil amendments to increase the efficacy and reduce the environmental impact of the herbicide fluometuron in agricultural soils. *J. Agric. Food Chem.* 58:7893–7901. doi:10.1021/jf100760s
- Hapeman, C.J., L.L. McConnell, C.P. Rice, A.M. Sadeghi, W.F. Schmidt, G.W. McCarty, J.L. Starr, P.J. Rice, J.T. Angier, and J.A. Harman-Fetcho. 2003. Current United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research on understanding agrochemical fate and transport to prevent and mitigate adverse environmental impacts. *Pest Manag. Sci.* 59:681–690. doi:10.1002/ps.720
- Hermosín, M.C., M.A. Ulibarri, M. Mansour, and J. Cornejo. 1992. Assaying sorbents for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid from water. *Fresenius Environ. Bull.* 1:472–481.
- Jackson, M.L. 1975. *Soil chemical analysis*. 2nd ed. Univ. of Wisconsin, Madison.
- Jaynes, W.F., and S.A. Boyd. 1991. Clay mineral type and organic compound sorption by hexadecyltrimethylammonium-exchanged clays. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55:43–48. doi:10.2136/sssaj1991.03615995005500010007x
- Kahle, M., M. Kleber, and R. Jahn. 2002. Review of XRD-based quantitative analyses of clay minerals in soils: The suitability of mineral intensity factors. *Geoderma* 109:191–205. doi:10.1016/S0016-7061(02)00175-1
- Klute, A. (ed.). 1986. *Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods*. 2nd ed. SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI.
- Lee, J.-F., J.R. Crum, and S.A. Boyd. 1989. Enhanced retention of organic contaminants by soils exchanged with organic cations. *Environ. Sci. Technol.* 23:1365–1372. doi:10.1021/es00069a006
- Locke, M.A., M.A. Weaver, R.M. Zablottowicz, R.W. Steinriede, C.T. Bryson, and R.F. Cullum. 2011. Constructed wetlands as a component of the agricultural landscape: Mitigation of herbicides in simulated runoff from upland drainage areas. *Chemosphere* 83:1532–1538. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.01.034
- McKeague, J.A., and J.H. Day. 1966. Dithionite- and oxalate-extractable Fe and Al as aids in differentiating various classes of soils. *Can. J. Soil Sci.* 46:13–22. doi:10.4141/cjss66-003
- Mueller, T.C., T.B. Moorman, and C.E. Snipes. 1992. Effect of concentration, sorption, and microbial biomass on degradation of the herbicide fluometuron in surface and subsurface soils. *J. Agric. Food Chem.* 40:2517–2522. doi:10.1021/jf00024a035
- Nir, S., T. Undabeytia, D. Yaron-Marcovich, Y. El-Nahal, T. Polubasova, C. Serban, G. Rytko, G. Lagaly, and B. Rubin. 2000. Optimization of adsorption of hydrophobic herbicides on montmorillonite preadsorbed by monovalent organic cations: Interaction between phenyl rings. *Environ. Sci. Technol.* 34:1269–1274. doi:10.1021/es9903781
- Prost, R., and B. Yaron. 2001. Use of modified clays for controlling soil environmental quality. *Soil Sci.* 166:880–895. doi:10.1097/00010694-200112000-00003
- Rankins, A., Jr., D.R. Shaw, and W.L. Kingery. 2002. Comparison of fluometuron sorption to soil from a filter strip and cropped field. *Weed Sci.* 50:820–823. doi:10.1614/0043-1745(2002)050[0820:COFSTS]2.0.CO;2
- Rao, P.S.C., A.G. Hornsby, and R.E. Jessup. 1985. Indices for ranking the potential for pesticide contamination of groundwater. *Proc. Soil Crop Sci. Soc. Fla.* 44:1–8.
- Rodríguez-Cruz, M.S., M.J. Sánchez-Martín, M.J. Andrades, and M. Sánchez-Camazano. 2007. Retention of pesticides in soil columns modified *in situ* with a cationic surfactant. *Sci. Total Environ.* 378:104–108. doi:10.1016/j.scitotenv.2007.01.021
- Sánchez, L., E. Romero, F. Sánchez-Rasero, G. Dios, and A. Peña. 2003. Enhanced soil sorption of methidathion using sewage sludge and surfactants. *Pest Manag. Sci.* 59:857–864. doi:10.1002/ps.686
- Savage, K.E., and R.D. Wauchoppe. 1974. Fluometuron adsorption-desorption equilibria in soil. *Weed Sci.* 22:106–110.
- Sparks, D.L. 1996. *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*. SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI.
- Trigo, C., R. Celis, M.C. Hermosín, and J. Cornejo. 2009. Organoclay-based formulations to reduce the environmental impact of the herbicide diuron in olive groves. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 73:1652–1657. doi:10.2136/sssaj2008.0349
- Undabeytia, T., F. Sopena, T. Sánchez-Verdejo, J. Villaverde, S. Nir, E. Morillo, and C. Maqueda. 2010. Performance of slow-release formulations of alachlor. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 74:898–905. doi:10.2136/sssaj2009.0133
- Washburn, E.W. 1921. Note on a method of determining the distribution of pore sizes in a porous material. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 7:115–116. doi:10.1073/pnas.7.4.115
- White, G.N., and J.B. Dixon. 2003. *Soil mineralogy laboratory manual*. 9th ed. Dep. of Soil and Crop Sciences, Texas A&M Univ., College Station.
- Worthing, C.R., and R.J. Hance. 1991. *The pesticide manual*. British Crop Protection Council, Surrey, UK.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Applied Clay Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clay

Research paper

Preparation and characterization of spermine-exchanged montmorillonite and interaction with the herbicide fluometuron

Beatriz Gámiz^a, Rafael Celis^{a,*}, M. Carmen Hermosín^a, Juan Cornejo^a, Cliff T. Johnston^b^a Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, P.O. Box 1052, 41080 Sevilla, Spain^b Crop, Soil and Environmental Sciences, Purdue University, 915 West State Street, West Lafayette, IN 47907-2054, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 July 2011

Received in revised form 7 February 2012

Accepted 8 February 2012

Available online xxxx

Keywords:

Adsorption

Fluometuron

Organoclay

Polycations

Spermine

Wyoming montmorillonite

ABSTRACT

We studied the interaction between the naturally occurring polycation spermine (SPERM) and Na-exchanged SWy-2 Wyoming montmorillonite (Na-SWy-2 Mt) and between spermine-exchanged montmorillonite (Mt-SPERM) and the herbicide fluometuron. Mt-SPERM with spermine contents ranging between 0 and 1.2 times the cation exchange capacity (CEC) of Na-SWy-2 were studied by XRD, FTIR and TGA analysis. Spermine was intercalated stoichiometrically into Na-SWy-2 up to the CEC of the clay mineral, resulting in basal spacing of 1.29 nm. TGA analysis indicated that intercalation of spermine into Na-SWy-2 increased the thermal stability of the organic cations and affected the dehydroxylation temperature of the clay mineral. FTIR measurements of Mt-SPERM samples showed the involvement of N–H and C–H groups of spermine in the interaction with the clay mineral. The intensity of the spermine N–H and C–H deformation vibrations increased linearly with the amount of spermine incorporated into Na-SWy-2 up to an amount close to the CEC of the montmorillonite. Structural modeling suggested that the arrangement of spermine cations formed a horizontal monolayer within the interlayer space of SWy-2 with strong interaction between the $-NH_3^+$ and $-NH_2$ groups of spermine and the montmorillonite surface oxygen atoms. Mt-SPERM showed pronounced affinity for the herbicide fluometuron.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Clay minerals are an important class of ubiquitous naturally-occurring nanoparticles. Because of their small size, expansive properties, anisotropic shape and reactive surfaces, the importance of clay minerals are recognized in a wide range of disciplines, including those related to their use as adsorbents of organic compounds (Bergaya and Lagaly, 2006; Cornejo et al., 2008; Johnston, 2010). Due to the hydrophilic, negative character of their surfaces, clay minerals, particularly expandable 2:1-type phyllosilicates (i.e., smectites), are good adsorbents for organic cations and polar organic compounds of high water solubility. However, the adsorption of sparingly and poorly soluble organic compounds, including many classes of pesticides, is usually limited (Boyd et al., 2011; Gonen and Rytwo, 2006; Jaynes and Vance, 1996; Mortland, 1970). One mechanism widely used to enhance the affinity of clay minerals for these pesticides consists of replacing the original inorganic exchangeable cations by organic cations by ion exchange. This simple modification changes the nature of the clay mineral surface from hydrophilic to hydrophobic, yielding organo-clay minerals with enhanced affinity for pesticide molecules (Boyd et al., 1988; Cornejo

et al., 2008; Groisman et al., 2004; Hermosín and Cornejo, 1992; Mortland et al., 1986; Nir et al., 2006).

The organic cations most commonly used for clay mineral modification are quaternary ammonium ions with alkyl chains and sometimes aromatic groups. Organic cations containing diverse polar functionalities can provide organo-clay minerals with enhanced affinity for particular pesticides (Cruz-Guzmán et al., 2004, 2005). The use of naturally-occurring organic cations for clay mineral modification was pointed out as an important strategy to reduce the possible negative environmental impact of adsorbents introduced into the environment for pollutant immobilization, controlled release of pesticides, and similar environmental applications (Celis et al., 2007; Cruz-Guzmán et al., 2004, 2005; Gámiz et al., 2010). Quaternary alkylammonium ions can exhibit some antimicrobial properties which could limit their effectiveness by being toxic to natural xenobiotic degraders since this would hinder natural attenuation of the pollutant in the environment (Nye et al., 1994; Sarkar et al., 2010). The use of organoclays prepared with naturally-occurring organic cations is then of advantage.

Fluometuron [N,N-dimethyl-N-[3-(trifluoromethyl)phenyl] urea] is a pre- and early postemergence phenylurea herbicide widely used to control grass and broad-leaved weeds in cotton and olive crops. Several studies were conducted to understand the behavior of this herbicide in soils, including studies on the effects of tillage and cover crops (Baskaran and Kennedy, 1999; Gaston et al., 2003; Locke et al., 2007; Zablotowicz et al., 2000), degradation studies (Halladja et al., 2007;

* Corresponding author. Tel.: +34 954624711; fax: +34 954624002.
E-mail address: rcelis@imase.csic.es (R. Celis).

Mueller et al., 1992; Weaver et al., 2004), as well as the development of different strategies to reduce herbicide losses and mitigate pollution, such as the use of organic amendments (Wagner and Zablotowicz, 1997), controlled release formulations (Zhao and Wilkins, 2003), and constructed wetlands (Locke et al., 2011). High mobility and leaching of fluometuron were reported for soils with low organic matter contents (Mueller et al., 1992) and, according to Baskaran and Kennedy (1999), this herbicide could diffuse through permeable and sandy soils causing groundwater contamination.

In a previous paper, we found that intercalation of the naturally-occurring polycation spermine in SWy-2 Wyoming montmorillonite yielded complexes with high affinities for the herbicide diuron (Celis et al., 2007). A subsequent study confirmed that the high affinity of spermine-exchanged Wyoming montmorillonite for diuron was also found for other phenylurea herbicides such as fluometuron (Gámiz et al., 2010). The objective of the present study was to get further insight into the molecular mechanisms of interaction between spermine (SPERM) and Wyoming montmorillonite (SWy-2 Mt) and between spermine-exchanged montmorillonite (Mt-SPERM) and the herbicide fluometuron.

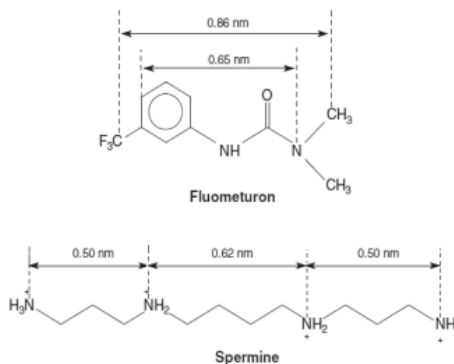


Fig. 1. Structure of fluometuron and spermine.

2. Materials and methods

2.1. Materials

The Wyoming montmorillonite SWy-2 was supplied by the Source Clays Repository of the Clay Minerals Society (Purdue University). Relevant physicochemical properties of SWy-2 are given in Table 1. Prior to use, SWy-2 was exchanged with Na⁺ by dispersing 40 g of SWy-2 in 1 L of 0.5 M NaCl for 24 h. The montmorillonite was washed to remove excess salts by repeated centrifugation with Millipore® water before the <2 µm size fraction (Na-SWy-2) was collected by centrifugation, freeze-dried, and stored in a closed container. Spermine tetrahydrochloride (purity > 98%) and fluometuron (purity = 99.5%) (Fig. 1) were used as supplied by Sigma-Aldrich. Spermine is a naturally-occurring polyamine with four pK_a values which lie in the interval 8–11 (Frassineti et al., 1995). Thus, the fully protonated form of spermine was predominant at acidic, neutral, and slightly alkaline conditions. Fluometuron is a neutral herbicide with a molar mass 232.2 and water solubility 105 mg L⁻¹ at 20 °C (Worthing and Hance, 1991).

2.2. Preparation of self-supporting montmorillonite-spermine films

A series of seven 20 mL aqueous solutions of spermine tetrahydrochloride containing an amount of spermine corresponding to 0, 0.15, 0.30, 0.45, 0.60, 0.90, and 1.2 times the CEC of Na-SWy-2 (Table 1) were mixed with 25 mg of the montmorillonite in Corex® centrifuge tubes which were then shaken for 24 h at room temperature. After shaking, the dispersions were stirred, and the volume was divided into two fractions of 10 mL containing 12.5 mg of solid. The two fractions were filtered separately using membrane filters (47 mm, 0.45 µm pore size, Millipore Co. Bedford, MA), and the solids were allowed to dry at room temperature. The air-dried montmorillonite-spermine films were peeled off the membrane sheet as self-supporting films (SSFs), and used for XRD, FTIR and TGA analysis.

2.3. Preparation of self-supporting montmorillonite-spermine-fluometuron films

Montmorillonite-spermine-fluometuron SSFs were prepared following a procedure similar to that described in the previous section. A series of 20 mL aqueous solutions containing an amount of spermine corresponding to 0.6 or 1.2 times the CEC of Na-SWy-2 were mixed with 25 mg of the montmorillonite in 30 mL Corex® centrifuge tubes. After 24 h shaking, the dispersions were centrifuged, the supernatants were removed, and 20 mL of aqueous solutions of fluometuron with initial herbicide concentrations ranging between 0.1 and 5 mg L⁻¹ were added to the centrifuge tubes, which were then re-equilibrated by shaking for 24 h. After equilibration, the tubes were centrifuged at 6000 rpm for 30 min before 2 mL of the supernatant solution was removed. The fluometuron concentration was determined by HPLC. The dispersion remaining in the centrifuge tube was stirred, divided into two fractions of 9 mL and 12.5 mg of solid, filtered using membrane filters, and allowed to dry at room temperature and analyzed by XRD, FTIR, and TGA. The amount of fluometuron adsorbed (C_a) was calculated from the difference between the initial (C_{ini}) and equilibrium (C_e) solution concentrations, measured by HPLC using a Waters 600E chromatograph coupled to a Water 996 diode-array detector. The following analytical conditions were used: Novapack C18 column (150 mm length × 3.9 mm i.d.), 60:40 water: acetonitrile eluent mixture at a flow rate of 1 mL min⁻¹, 25 µL injection volume, and UV detection at 243 nm.

2.4. Characterization of the self-supporting films

2.4.1. X-ray diffraction

X-ray diffraction (XRD) patterns were recorded with a PANalytical B.V. diffractometer, Model X'Pert PRO (Almelo, Netherlands) with Co radiation. The d₀₀₁-values were determined for both air-dried SSF and after saturation in water vapor for 24 h. The data were collected from 2° to 80° 2θ, counting for 1 s every 0.02° 2θ step. A 1° exit Soler slit

Table 1
Properties of SWy-2 montmorillonite.^a

Ideal formula	Octahedral sheet type	Tetrahedral charge content (%)	CEC (cmol _c kg ⁻¹)	Specific surface area (m ² g ⁻¹)	Surface charge density (mmol m ⁻²)
M ⁺ _{0.33} (Si ₄) ^{IV} (Al _{1.67} Mg _{0.33}) ^{VI} O ₁₀ (OH) ₂	Diocahedral	3.6	82	750	1.07

^a Data from Rana et al. (2009).

was used between 2 to 12° 2 θ . Data analysis was done using X'Pert HighScore Plus software Version 2.2 (PANalytical B.V.).

2.4.2. Fourier-transform infrared spectroscopy

Fourier-transform infrared (FTIR) spectra were recorded on a Perkin-Elmer GX2000 spectrometer equipped with deuterated triglycine (DTGS) and Mercury-cadmium-telluride (MCT) detectors, using the spectral range of 4000–580 cm^{-1} . The spectrum of pure spermine (tetrahydrochloride) was recorded by diffuse reflectance spectroscopy. A mixture of 1% spermine in KBr was prepared with oven-dried (105 °C) KBr powder and transferred to a sample cup placed in the diffuse reflectance accessory. The Grams/32 (Galactic software) program was used to analyze and plot spectra.

2.4.3. Thermogravimetric analysis

Thermogravimetric analyses (TGA) were conducted in a Mettler Toledo Model-TGA/SDTA851e instrument. The SSFs were ground in an agate mortar and placed in 40 μL ceramic crucibles. Thermogravimetric measurements were recorded from 25 °C to 1000 °C with a heating rate of 20 °C min^{-1} under a flow of N_2 . All thermogravimetric curves were normalized to an initial amount of 10 mg of sample.

2.5. In situ attenuated total reflectance (ATR)-FTIR measurements

A 2 mL-horizontal trough ATR cell (Pike Technologies, Madison, WI) was used. The internal reflection element (IRE) was the ZnSe crystal with dimensions of 73 mm \times 7 mm and an angle of incidence of 45°. The spectrum of spermine in aqueous solution at a concentration of 30 mM was recorded by adding 2 mL of spermine tetrahydrochloride solution into the ATR-FTIR cell. Then, with the purpose of studying the adsorption of spermine on Na-SWy-2, 5 mg of the montmorillonite were dispersed in 5 mL of ultra pure water for 30 min in a water bath sonicator. One milliliter of this dispersion containing 1 mg of Na-SWy-2 was placed in the ATR cell and air-dried overnight, then washed 3 times with 1 mL of water. The intensity of the $\nu(\text{Si}-\text{O})$ band was monitored until the solid was water-saturated. Subsequently, 1 mL-aliquots of the aqueous spermine solution containing an amount of spermine corresponding to 0.15 times the CEC of Na-SWy-2 were added in steps to the cell. After each addition the ATR-FTIR spectrum was recorded and the supernatant was removed from the cell and replaced by 1 mL of fresh spermine solution. The procedure was repeated until reaching a stable signal of spermine. Then, the procedure was repeated by sequentially increasing the concentration of the spermine solution for a total of 25 additions.

Once saturation of Na-SWy-2 with spermine was completed, the experiment was continued in order to study the interactions between the in situ-formed spermine-montmorillonite deposit and the herbicide fluometuron. For this purpose, the final deposit of montmorillonite-spermine resulting from the previous experiment was allowed to dry overnight. Then a series of aqueous solutions of fluometuron with different herbicide concentrations (0.8, 1, 2 and 5 mg L^{-1}) were sequentially added for a total of 39 additions. The resolution for FTIR spectra was 2.0 cm^{-1} , and a total of 64 scans were collected for each spectrum.

2.6. Structure modeling

The molecular structure of spermine-exchanged montmorillonite was generated using molecular dynamics employing the CLAYFF force field implemented in the Material Studio Version 4.2 software (Accelrys, Inc., San Diego, CA). This software was also used to determine the interatomic distances in spermine and fluometuron (Fig. 1).

3. Results and discussion

3.1. Montmorillonite-spermine

3.1.1. X-ray diffraction

The air-dried SSF of Na-SWy-2 without spermine had a basal spacing of 1.27 nm (Fig. 2A), which was consistent with the presence of Na^+ retaining one layer of hydration water in the interlayer space (Chipera and Bish, 2001; Johnston, 2010; Nam et al., 2009). The d_{001} -value of 1.29 nm recorded for the samples reacted with the highest amounts of spermine (0.9 and 1.2 \times CEC) was lower than previously reported values for alkylammonium-exchanged montmorillonites (Jordan, 1949; Lagaly, 1981; Serratosa et al., 1984), but similar to the value reported by Celis et al. (2007) for an air-dried spermine-saturated SWy-2 raw sample. These samples with higher amounts of spermine showed well defined, intense

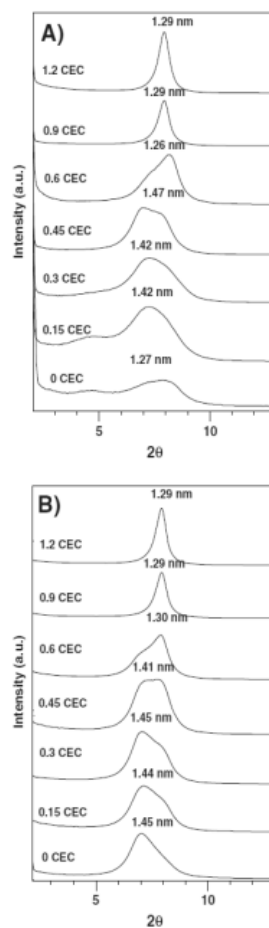


Fig. 2. X-ray diffraction patterns of self-supporting films (SSFs) of Na-SWy-2 reacted with amounts of spermine ranging between 0 and 1.2 \times CEC of the clay mineral: A) air-dried SSFs, B) water-saturated SSFs.

basal reflections, thus indicating well-ordered systems (Fig. 2). Samples with low spermine contents showed d_{001} -values (1.42–1.47 nm) larger than that of the original Na-SWy-2 sample and of the samples with the highest amounts of spermine due to the presence of both hydrated Na^+ and spermine cations in the interlayer space of the air-dried samples. Quantitative displacement of the Na^+ ions by spermine cations at higher spermine additions yielded a dense arrangement of the organic cations in the interlayer space.

The basal spacings of water-saturated SSF (Fig. 2B) around 1.45 nm recorded for samples with low spermine content and without spermine indicated the presence of two layers of water molecules associated with Na^+ ions in the interlayer space. The fact that the basal spacing of samples with higher amounts of spermine remained unchanged at 1.29 nm after saturation with water (Fig. 2B) revealed that the spermine cations held the montmorillonite layers together and prevented further expansion of the lattice when exposed to high relative humidity. This result could be indicative of the high attraction between the four ammonium groups of spermine and the negative layer charges. A similar behavior was observed in related organoclay complexes prepared with nitroaromatic compounds (Li et al., 2004; Sheng et al., 2002).

3.1.2. Thermal analysis

The TGA curve of Na-SWy-2 without spermine was characterized by two mass loss features (Fig. 3), one around 100 °C with a shoulder at 135 °C for water loss, and the other one near 700 °C for the dehydroxylation of the clay mineral (Xi et al., 2005). In contrast, the decomposition of the spermine-exchanged montmorillonites occurred in three steps (Fig. 3), in agreement with previous studies (Celis et al., 2007; Xi et al., 2005; Yaviv, 2004). The first mass-loss step, corresponding to water loss, occurred at the same temperature as for unmodified montmorillonite, near 100 °C. With increasing spermine content, this mass loss became less pronounced and the shoulder at 135 °C disappeared, thus indicating that the interlayer spermine was much less hydrated than the interlayer Na^+ ions. The second mass loss between 200 and 550 °C can be assigned to the decomposition of the organic cations. The second mass loss step of spermine-montmorillonite was located at a considerably higher temperature (~475 °C) compared to pure spermine tetrahydrochloride (~375 °C), showing that spermine was protected by the montmorillonite layers against thermal decomposition. Finally, the mass loss above 550 °C was attributed to the dehydroxylation of the clay mineral. Even at low spermine loadings, the dehydroxylation feature of Na-SWy-2 was shifted to lower temperature (Fig. 3). There was a very good linear relationship ($R^2 = 0.988$) between the amounts of spermine in the samples, as determined by the second mass loss of the thermograms, and the amounts calculated by assuming that all spermine

added was incorporated into the SSFs (Fig. 3). Nevertheless, the amounts of organic cations in the samples with higher amounts of spermine might have been overestimated due to the overlapping between the mass loss of spermine and the dehydroxylation of montmorillonite (Fig. 3).

3.1.3. FTIR study

The FTIR spectra of SSFs of Na-SWy-2 reacted with different amounts of spermine were normalized to the band of the stretching mode of structural OH groups of smectite, $\nu(\text{OH})$, at 3630 cm^{-1} , which was used as an internal standard (Fig. 4). The position of this band was slightly shifted to lower wavenumbers upon saturation of Na-SWy-2 with spermine (Fig. 4A), presumably due to the interaction between the organic cations and the montmorillonite layers. This explained the impact of spermine on the dehydroxylation temperature of the clay mineral as observed in the TGA study. The broad band appearing in the spectra near 3400 cm^{-1} (Fig. 4A) corresponded to the O–H stretching vibration of water. The intensity of this band decreased with the amount of spermine in the samples, reflecting the lower hydration of the spermine-exchanged samples.

The bands appearing in the spectra at $3125\text{--}2770\text{ cm}^{-1}$ (Fig. 4A) were attributed to the N–H stretching vibrations of the protonated $-\text{NH}_3^+$ and $-\text{NH}_2^+$ groups and to the C–H stretching vibrations of the $-\text{CH}_2$ groups of spermine whereas the group of bands between 1595 and 1455 cm^{-1} (Fig. 4B) was assigned to the N–H and C–H deformation modes of the organic polycation (Celis et al., 2007). Broadening and shifting of the bands of C–H and $-\text{NH}_3^+$ and $-\text{NH}_2^+$ of montmorillonite-spermine compared to pure spermine tetrahydrochloride (Fig. 4) indicated involvement of such groups in the interaction between the organic cations and the montmorillonite. In particular, the position of the band at 1525 cm^{-1} in Fig. 4B was consistent with previously reported values for the N–H deformation vibration of protonated amine groups interacting with the layer charges (Darder et al., 2003; Monvisade and Siriphanon, 2009). Interestingly, integration of the bands between 1575 and 1375 cm^{-1} resulted in a linear relationship with the amount of spermine added up to $0.9 \times \text{CEC}$ (Fig. 5). This supported the high affinity of spermine for SWy-2 montmorillonite up to an amount close to the CEC of the clay mineral.

To complement the FTIR results obtained with SSFs, an in situ ATR-FTIR experiment was carried out to further characterize the montmorillonite-spermine samples (Fig. 6). In the in situ ATR-FTIR spectra of water, Na-SWy-2 in water, and Na-SWy-2 after reaction with spermine at the highest concentration (Fig. 6A, B, and C), the most prominent bands were the OH stretching ($\sim 3500\text{ cm}^{-1}$) and bending (1639 cm^{-1}) bands of water. In addition, the $\nu(\text{Si-O})$ band of Na-SWy-2 (1040 cm^{-1}) was also visible in the spectra B

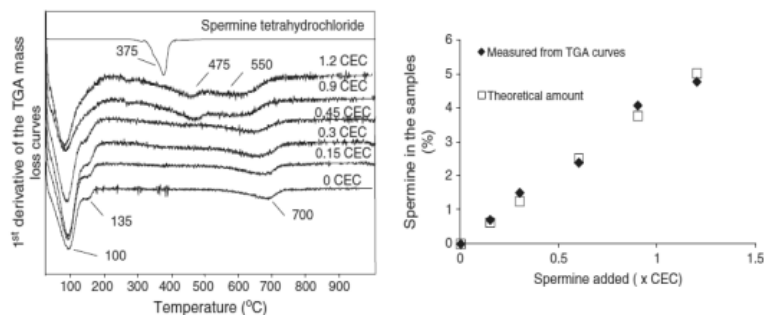


Fig. 3. First derivative of the TGA mass loss of spermine tetrahydrochloride and Na-SWy-2 reacted with different amounts of spermine (left) and the linear relationship between the amount of spermine in the samples and the amount added (right).

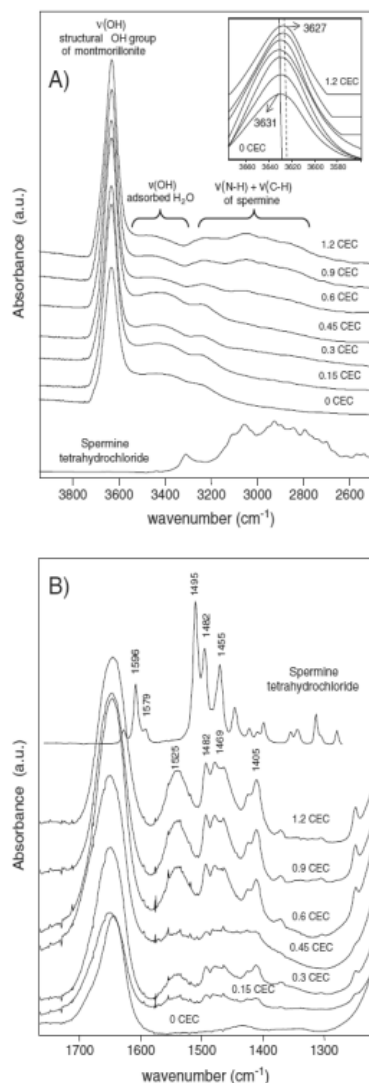


Fig. 4. Selected regions of the FT-IR spectra of spermine tetrahydrochloride and spermine-reacted Na-SWy-2 SSFs: A) region showing the N–H and C–H stretching modes of spermine, the stretching mode of adsorbed water and the stretching mode of structural OH groups of montmorillonite, B) region showing the N–H and C–H deformation modes of spermine. Enlarged: region of structural OH groups of montmorillonite.

and C. Subtraction of the water signal was used to evaluate modifications in the absorption bands of Na-SWy-2 after adsorption of spermine (Fig. 6D and E). In the extended view of spectrum E, the N–H and C–H deformation band of spermine was identified at 1479 cm^{-1} (Fig. 6F), whereas this band appeared at 1473 cm^{-1} in the spectrum of spermine at 30 mM in the ATR-FTIR cell (Fig. 6G). Therefore, the position of the N–H and C–H deformation band of

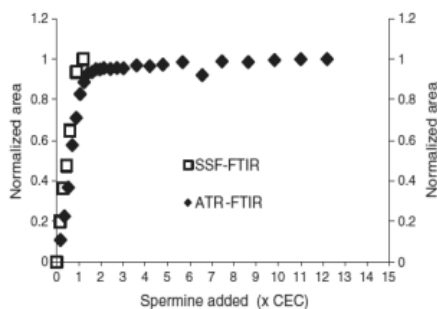


Fig. 5. Relationship between the area of the bands corresponding to spermine N–H and C–H deformation modes and the amount of spermine added to Na-SWy-2. Comparison of the SSFs and ATR-FTIR data. All areas were normalized to that obtained after adding spermine at $1.2 \times \text{CEC}$ of SWy-2.

spermine at 1479 cm^{-1} in Fig. 6F showed a shift as a result of the interaction of spermine with the clay mineral. The area of this band was plotted as a function of the amount of spermine added to Na-SWy-2 (Fig. 5). The curve reached a plateau close to the CEC, which was in agreement with SSF data and previous studies of Celis et al. (2007). Most likely, the limited amount of intercalated spermine was due to the saturation of the CEC of SWy-2. Consequently, the in situ ATR-FTIR technique gave not only useful qualitative information on organic modification of montmorillonite but also quantitative information in agreement with FT-IR analysis of SSFs (Fig. 5).

3.1.4. Structure modeling

Molecular dynamics modeling indicated that the most favorable arrangement of spermine cations in the interlayer space of SWy-2 would be an almost parallel orientation of spermine cations with $-\text{NH}_3^+$ and $-\text{NH}_2^+$ groups being keyed into the ditrigonal cavities of the layers with formation of hydrogen bonds to the surface oxygen atoms (Fig. 7). The ditrigonal cavities have a diameter which is close to the size of the

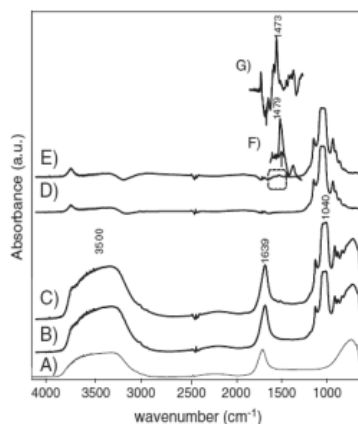


Fig. 6. ATR-FTIR spectra of (A) H_2O , (B) Na-SWy-2 in water, (C) spermine-saturated Na-SWy-2, (D) Na-SWy-2 with spectrum of H_2O subtracted, (E) spermine-saturated Na-SWy-2 with spectrum of H_2O subtracted, (F) extended view of spectrum (E) showing the diagnostic vibration band of spermine adsorbed on SWy-2, (G) aqueous solution of 30 mM spermine.

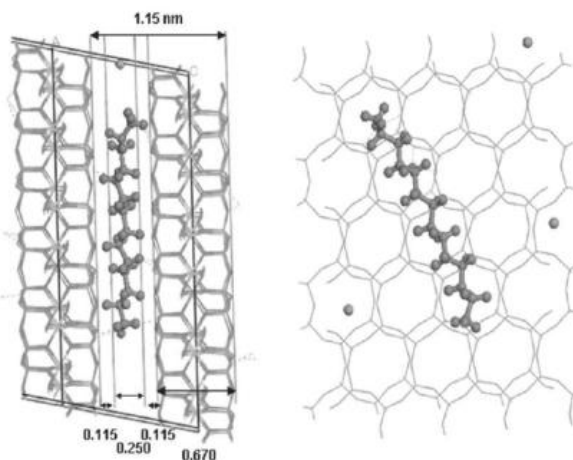


Fig. 7. Schematic representation of the possible arrangement of spermine polycations in the interlayer space of SWy-2 at dehydrated conditions. All distances are given in nanometers.

NH_4^+ ion (Johnston and Tombácz, 2002), and this may have favored the interaction of spermine with SWy-2. The proposed conformation would result in a basal spacing of about 1.15 nm for the dehydrated system. The observed spacing of 1.29 nm for air-dried spermine-montmorillonites (Fig. 2) was reasonable assuming the presence of some water molecules in the interlayer space. Serratos et al. (1984) reported a similar d_{001} -value of 1.32 nm for medium-charged vermiculite intercalated with butylammonium ions, with the NH_3^+ end-groups being keyed into the ditrigonal cavities of the clay mineral. Celis et al. (2007) observed that the basal spacing of spermine-saturated SWy-2 decreased to 1.24 nm after heating at 200 °C, thus approaching to the value predicted for the completely dehydrated system.

Considering the surface charge density of SWy-2 as 1.07 mmol charges per m^2 (Table 1), the distance between two adjacent charges in spermine (0.5–0.6 nm, Fig. 1) would be shorter than the average distance between two permanent adjacent charges of the SWy-2 layer (~1.4 nm). However, because montmorillonite layers are stacked on top of each other, the effective surface charge density would be increased by a factor of two and the average separation between negatively charged sites would be further reduced to about 0.7 nm. Thus, a single spermine cation could compensate adjacent charges located on the two opposite montmorillonite layers. In addition, octahedral substitution (e.g. Mg^{2+} replacing Al^{3+}) in smectites results in a charge deficit which is delocalized up to over 8 surface oxygen atoms (0.7 nm) on each side of the fundamental particles (Johnston, 2010). This further made the charge distribution in SWy-2 reasonably compatible with the distance between charges in the spermine polycation. Thus, the charge separation in spermine may have contributed to strengthen the clay mineral–organic interaction and to reduce the basal spacing as compared to previously reported values for alkylammonium-exchanged montmorillonites (Jordan, 1949; Lagaly, 1981; Serratos et al., 1984).

3.2. Montmorillonite-spermine-fluometuron

Fluometuron adsorption isotherms on Na-SWy-2 reacted with spermine at 0.6 and 1.2 \times CEC of the clay mineral were obtained during the preparation of montmorillonite-spermine-fluometuron SSFs (Fig. 8). The isotherms showed the high affinity of fluometuron for spermine-exchanged montmorillonites and indicated that higher

amounts of spermine increased the adsorption of fluometuron. Previous studies showed that unexchanged SWy-2 montmorillonite had little affinity for fluometuron (Gámiz et al., 2010). The adsorption isotherm of fluometuron on Na-SWy-2 reacted with spermine at 1.2 \times CEC (Fig. 8) was very similar to that reported by Gámiz et al. (2010) for fluometuron adsorption on a spermine-saturated SWy-2 sample, despite the adsorption data were obtained under slightly different experimental conditions.

Montmorillonite-spermine-fluometuron SSFs were characterized by XRD and TGA. Both the basal spacing and the second mass loss of the montmorillonite-spermine SSFs remained unchanged after fluometuron adsorption. This could be due to the relatively small fluometuron content of the SSFs, which was $<3 \text{ g herbicide kg}^{-1}$ (i.e., 13 mmol kg^{-1}) in all cases (Fig. 8). In the diffuse reflectance spectrum of fluometuron (Fig. 9H), the main absorption bands appeared at 1656 cm^{-1} for the stretching vibration of the carbonyl group, at 1540 and 1124 cm^{-1} for benzene ring stretching bands, and at 1336 cm^{-1} for the $-\text{CF}_3$

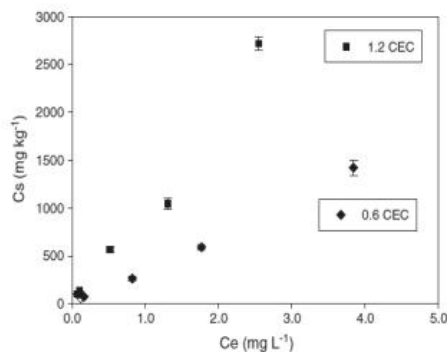


Fig. 8. Fluometuron adsorption isotherms on Na-SWy-2 reacted with an amount of spermine corresponding to 0.6 and 1.2 \times CEC of the clay mineral. Error bars correspond to the standard errors of duplicate measurements.

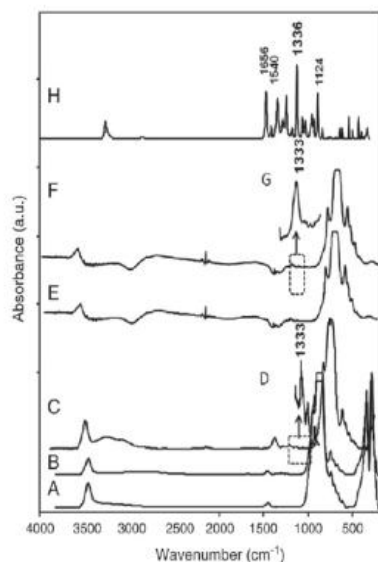


Fig. 9. FTIR spectra of (A) SSF of Na-SWy-2, (B) SSF of Na-SWy-2 reacted with spermine at $1.2 \times \text{CEC}$, (C) SSF of Na-SWy-2 reacted with spermine at $1.2 \times \text{CEC}$ and then with a 5 mg L^{-1} fluometuron solution, (D) extended view of spectrum (C), (E) in situ ATR-FTIR spectrum of Na-SWy-2 saturated with spermine with spectrum of H_2O subtracted, (F) in situ ATR-FTIR spectrum of Na-SWy-2 saturated with spermine and fluometuron with spectrum of H_2O subtracted, (G) extended view of spectrum (F) showing the diagnostic vibration band of fluometuron adsorbed on montmorillonite-spermine, (H) fluometuron spectrum in diffuse reflectance.

stretching vibration (Quintás et al., 2003). The most significant feature of the spectra of SSFs was the shifting of the band corresponding to the $-\text{CF}_3$ group of adsorbed fluometuron at 1333 cm^{-1} , towards lower wavenumbers compared to the pure compound. The intensity of this band at 1333 cm^{-1} increased after each herbicide addition during the in situ ATR-FTIR experiment. The area of the band at 1333 cm^{-1} as a function of the amount of fluometuron added reached a plateau (Fig. 10), which would correspond to the maximum herbicide uptake by the spermine saturated Na-SWy-2, determined by HPLC measurements as 12 g kg^{-1} (i.e., 52 mmol kg^{-1}).

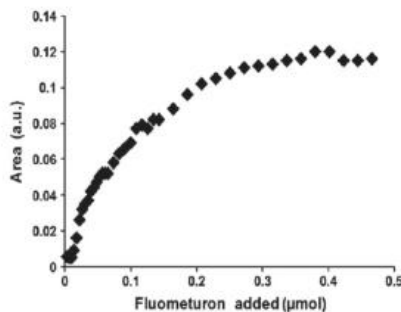


Fig. 10. Area of the fluometuron $-\text{CF}_3$ band after successive herbicide additions to spermine-saturated SWy-2 during the in situ ATR-FTIR experiment.

4. Conclusions

Spermine is readily intercalated into Na-saturated Wyoming montmorillonite up to an amount close to the CEC of the clay mineral, with basal spacings between 1.45 and 1.29 nm as the spermine content increased. Spermine-intercalated SWy-2 displayed greater resistance to expansion by hydration than the original Na-saturated montmorillonite. TGA data showed that the intercalation of spermine in SWy-2 increased the thermal stability of the polycation and reduced the dehydroxylation temperature of the clay mineral. FTIR spectroscopy data indicated involvement of aliphatic and amino groups of spermine in the interaction with the montmorillonite surface. These results were consistent with the arrangement of the spermine polycations in monolayers parallel to the silicate layers. The NH_3^+ and NH_2^+ groups of the polycations are keying into the ditrigonal cavities of the layers as a result of strong interaction between these groups and the SWy-2 surface oxygen atoms. In accordance with previous studies, adsorption and FT-IR measurements indicated a high affinity of spermine-montmorillonite to the phenylurea herbicide fluometuron.

Acknowledgments

This work has been financed by Junta de Andalucía (Project P07-AGR-03077), the Spanish Ministry of Science and Innovation (Project AGL2008-04031-C02-01), and the European Union (Project PIRSES-GA-2008-230796 and FEDER-FSE funds). The authors thank Brian J. Teppen and Cun Liu for their help with the molecular dynamics modeling section. Beatriz Gámiz also thanks Junta de Andalucía for her FPI fellowship.

References

- Baskaran, S., Kennedy, I.R., 1999. Sorption and desorption kinetics of diuron, fluometuron, prometryn and pyriproxyfen sodium in soils. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 34, 943–963.
- Bergaya, F., Lagaly, G., 2006. General introduction: clays, clay minerals, and clay science. In: Bergaya, F., Theng, B.K.G., Lagaly, G. (Eds.), *Handbook of Clay Science*. Elsevier, Amsterdam, pp. 1–18.
- Boyd, S.A., Shaohai, S., Lee, J.F., Mortland, M.M., 1988. Pentachlorophenol sorption by organo-clays. *Clays and Clay Minerals* 36, 125–130.
- Boyd, S.A., Johnston, C.T., Laird, D.A., Teppen, B.J., Li, H., 2011. Comprehensive study of organic contaminant adsorption by clays: methodologies, mechanisms, and environmental implications. In: Xing, B., Senesi, N., Huang, P.M. (Eds.), *Biophysical-Chemical Processes of Anthropogenic Organic Compounds in Environmental Systems*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 51–71.
- Celis, R., Trigo, C., Facenda, G., Hermosin, M.C., Cornejo, J., 2007. Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 6650–6658.
- Chipera, S.J., Bish, D.L., 2001. Baseline studies of The Clay Minerals Society Source Clays: powder X-ray diffraction analyses. *Clays and Clay Minerals* 49, 398–409.
- Cornejo, J., Celis, R., Pavlovic, I., Ulibarri, M.A., 2008. Interactions of pesticides with clays and layered double hydroxides: a review. *Clay Minerals* 43, 155–175.
- Cruz-Guzmán, M., Celis, R., Hermosin, M.C., Cornejo, J., 2004. Adsorption of the herbicide simazine by montmorillonite modified with natural organic cations. *Environmental Science & Technology* 38, 180–186.
- Cruz-Guzmán, M., Celis, R., Hermosin, M.C., Koskinen, W.C., Cornejo, J., 2005. Adsorption of pesticides from water by functionalized organobentonites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 7502–7511.
- Darder, M., Colilla, M., Ruiz-Hitzky, E., 2003. Biopolymer-clay nanocomposites based on chitosan intercalated in montmorillonite. *Chemistry of Materials* 15, 3774–3780.
- Frassinetti, C., Ghelli, S., Gans, P., Sabatini, A., Moruzzi, M.S., Vacca, A., 1995. Nuclear magnetic resonance as a tool for determining protonation constants of natural polyprotic bases in solution. *Analytical Biochemistry* 231, 374–382.
- Gámiz, B., Celis, R., Hermosin, M.C., Cornejo, J., 2010. Organoclays as soil amendments to increase the efficacy and reduce the environmental impact of the herbicide fluometuron in agricultural soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (13), 7893–7901.
- Gaston, L.A., Boquet, D.J., Bosch, M.A., 2003. Fluometuron sorption and degradation in cores of silt loam soil from different tillage and cover crop systems. *Soil Science Society of America Journal* 67, 747–755.
- Gonen, Y., Rytwo, G., 2006. Using the dual-mode model to describe adsorption of organic pollutants onto an organoclay. *Journal of Colloid and Interface Science* 299, 95–101.

- Groisman, L., Rav-Acha, C., Gerstl, Z., Mingešgrin, U., 2004. Sorption of organic compounds of varying hydrophobicities from water and industrial wastewater by long- and short-chain organoclays. *Applied Clay Science* 24, 159–166.
- Halladj, S., Amine-Khodja, A., ter Halle, A., Boulikamh, A., Richard, C., 2007. Photolysis of fluometuron in the presence of natural water constituents. *Chemosphere* 69, 1647–1654.
- Hermosin, M.C., Cornejo, J., 1992. Removing 2,4-D from water by organo-clays. *Chemosphere* 24, 1493–1503.
- Jaynes, W.F., Vance, G.F., 1996. RTX sorption by organo-clays: cosorptive enhancement and equivalence of interlayer complexes. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1742–1749.
- Johnston, C.T., 2010. Probing the nanoscale architecture of clay minerals. *Clay Minerals* 45, 245–279.
- Johnston, C.T., Tombácz, E., 2002. Surface chemistry of soil minerals. In: Dixon, J.B., Schulze, D.G. (Eds.), *Soil Mineralogy with Environmental Applications: SSSA Book Series*, 7, pp. 37–67. Madison, WI.
- Jordan, J.W., 1949. Organophilic bentonites. I. Swelling in organic liquids. *The Journal of Physical Chemistry* 53, 294–306.
- Lagaly, G., 1981. Characterization of clays by organic compounds. *Clay Minerals* 16, 1–21.
- Li, H., Teppen, B.J., Johnston, C.T., Boyd, S.A., 2004. Thermodynamics of nitroaromatic compound adsorption from water by smectite clay. *Environmental Science & Technology* 38, 5433–5442.
- Locke, M.A., Zablutowicz, R.M., Steinriede, R.W., Kingery, W.L., 2007. Degradation and sorption of fluometuron and metabolites in conservation tillage soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 844–851.
- Locke, M.A., Weaver, M.A., Zablutowicz, R.M., Steinriede, R.W., Bryson, C.T., Cullum, R.F., 2011. Constructed wetlands as a component of the agricultural landscape: mitigation of herbicides in simulated runoff from upland drainage areas. *Chemosphere* 83, 1532–1538.
- Monvisade, P., Siriphannon, P., 2009. Chitosan intercalated montmorillonite: preparation, characterization and cationic dye adsorption. *Applied Clay Science* 42, 427–431.
- Mortland, M.M., 1970. Clay-organic interactions. *Advances in Agronomy* 23, 75–117.
- Mortland, M.M., Shaobai, S., Boyd, S.A., 1986. Clay-organic complexes as adsorbents for phenol and chlorophenols. *Clays and Clay Minerals* 34, 581–585.
- Mueller, T.C., Moorman, T.B., Snipes, C.E., 1992. Effect of concentration, sorption, and microbial biomass on degradation of the herbicide fluometuron in surface and sub-surface soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 2517–2522.
- Nam, H.-J., Ebina, T., Mizukami, F., 2009. Formability and properties of self-standing clay film by montmorillonite with different interlayer cations. *Colloid Surface A* 346, 158–163.
- Nir, S., El-Nahal, Y., Undabeytia, T., Rytwo, G., Polubesova, T., Mishael, Y., Rabinovitz, U., Rubin, B., 2006. Clays and pesticides. In: Bergaya, F., Theng, B.K.G., Lagaly, G. (Eds.), *Handbook of Clay Science*. Elsevier, Amsterdam, pp. 677–691.
- Nye, J.V., Guerin, W.F., Boyd, S.A., 1994. Heterotrophic activity of microorganisms in soils treated with quaternary ammonium compounds. *Environmental Science & Technology* 28, 944–951.
- Quintás, G., Morales-Noé, A., Parrilla, C., Garrigués, S., de la Guardia, M., 2003. Fourier transform infrared determination of Fluometuron in pesticide formulations. *Vibrational Spectroscopy* 31, 63–69.
- Rana, K., Boyd, S.A., Teppen, B.J., Li, H., Liu, C., Johnston, C.T., 2009. Probing the microscopic hydrophobicity of smectite surfaces. A vibrational spectroscopic study of dibenzo-p-dioxin sorption to smectite. *Physical Chemistry Chemical Physics* 11, 2976–2985.
- Sarkar, B., Megharaj, M., Xi, Y., Krishnamurti, G.S.R., Naidu, R., 2010. Sorption of quaternary ammonium compounds in soils: Implications to the soil microbial activities. *Journal of Hazardous Materials* 184, 448–456.
- Serratos, J.M., Rausell-Colom, J.A., Sanz, J., 1984. Charge density and its distribution in phyllosilicates: effect on the arrangement and reactivity of adsorbed species. *Journal of Molecular Catalysis* 27, 225–234.
- Sheng, G., Johnston, C.T., Teppen, B.J., Boyd, S.A., 2002. Adsorption of dinitrophenol herbicides from water by montmorillonite. *Clays and Clay Minerals* 50, 25–34.
- Wagner, S.C., Zablutowicz, R.M., 1997. Effect of organic amendments on the bioremediation of cyanazine and fluometuron in soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 32, 37–54.
- Weaver, M.A., Zablutowicz, R.M., Locke, M.A., 2004. Laboratory assessment of atrazine and fluometuron degradation in soils from a constructed wetland. *Chemosphere* 57, 853–862.
- Worthing, C.R., Hance, R.J., 1991. *The Pesticide Manual*. British Crop Protection Council, Surrey, U.K.
- Xi, Y., Martens, W., He, H., Frost, R.L., 2005. Thermogravimetric analysis of organoclays intercalated with the surfactant octadecyltrimethylammonium bromide. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 81, 91–97.
- Yariv, S., 2004. The role of charcoal on DTA curves of organo-clay complexes: an overview. *Applied Clay Science* 24, 225–236.
- Zablutowicz, R.M., Locke, M.A., Gaston, L.A., Bryson, C.T., 2000. Interactions of tillage and soil depth on fluometuron degradation in a Dundee silt loam soil. *Soil and Tillage Research* 57, 61–68.
- Zhao, J., Wilkins, R.M., 2003. Controlled release of the herbicide, fluometuron, from matrix granules based on fractionated organosolv lignins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 4023–4028.

ARTICLE IN PRESS

STOTEN-13496; No of Pages 8

Science of the Total Environment xxx (2012) xxx–xxx



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

Effect of olive-mill waste addition to soil on sorption, persistence, and mobility of herbicides used in Mediterranean olive groves

B. Gámiz, R. Celis*, L. Cox, M.C. Hermosín, J. Cornejo

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC, Avenida Reina Mercedes 10, P.O. Box 1052, 41080 Sevilla, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 February 2012

Received in revised form 12 April 2012

Accepted 12 April 2012

Available online xxx

Keywords:

Organic amendment

Olive-mill waste

Fluometuron

Terbuthylazine

Leaching

Runoff

ABSTRACT

Laboratory and field experiments were conducted to evaluate the effect of olive-mill waste (OMW) addition to a Mediterranean olive grove soil on sorption, persistence, and mobility of two herbicides which are simultaneously applied for weed control in olive groves: terbuthylazine (TA) and fluometuron (FM). Laboratory batch sorption experiments showed that OMW addition to the soil at rates of 5 and 10% (w/w) greatly enhanced the sorption of both herbicides, thus suggesting that amendment with OMW could be useful to enhance the retention and reduce the mobility of FM and TA in the soil. Incubation experiments showed that OMW increased the persistence of FM and had little effect on the long persistence of TA in the soil studied. A demonstration field experiment was also conducted in field plots with a slope of about 5%, either unamended or amended with OMW at a rate of 10 kg m⁻², and then treated with a commercial formulation containing a mixture of TA and FM. Extraction of field soil samples, taken from different soil depths (0–5, 5–10, 10–20, and 20–30 cm) at different times after herbicide application, showed that both TA and FM moved deeper in unamended soil than in OMW-amended soil, and that OMW addition affected the persistence of FM in the top layer, increasing its half-life from 24 to 58 days, while having little effect on the persistence of TA. Thus, data obtained under real field conditions were consistent with those obtained under controlled laboratory conditions. Preliminary herbicide runoff data indicated that the total herbicide runoff losses were also reduced upon OMW addition. Addition of OMW could be beneficial in reducing the mobility of TA and FM in olive grove soils, and also in increasing the persistence of FM in soils where this herbicide could be rapidly degraded.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The use of pesticides in agricultural activities has become a matter of concern due to potential adverse effects of pesticides on the environment and human health (Arias-Estévez et al., 2008; Hapeman et al., 2003; Rice et al., 2007). Mediterranean olive groves comprise a high-risk scenario of ground and surface water contamination by herbicides, mainly because most olive grove soils have little capacity for reducing pesticide mobility as a result of their low (<2%) organic matter content (Albarrán et al., 2003; Celis et al., 2007; Trigo et al., 2009). In addition, pronounced slopes and climatic conditions, i.e. short but heavy rainfall events commonly occurring in seasons when herbicides are applied for weed control, exacerbate the risk of pesticide runoff and leaching (Ramos and Porta, 1994; Trigo et al., 2009). For instance, a long-term monitoring study conducted in the Guadalquivir river basin (southern Spain) revealed important seasonal contamination of ground and surface waters by herbicides commonly applied for weed control in olive growing areas (Hermosín et al., 2009). In

this context, it is necessary to develop strategies to reduce the impact caused by pesticides in high-risk scenarios such as Mediterranean olive groves. Some of the currently used strategies include the use of vegetative filter strips (Krutz et al., 2005), a careful selection of the pesticide formulation or the way the pesticide is applied to the soil (Trigo et al., 2009), and the addition of inorganic and organic amendments to enhance the soil sorption capacity for the applied pesticides (Albarrán et al., 2003; Cabrera et al., 2007; Gámiz et al., 2010; Sánchez et al., 2003).

Organic waste addition to agricultural soils is a widely used agricultural practice in Spain and other Mediterranean countries, where soils have, in general, low organic matter contents (Albarrán et al., 2003; Cabrera et al., 2009; Cox et al., 1997; Herrero-Hernández et al., 2011; López-Piñero et al., 2011). This practice can also be considered as an "ecological" way for the disposal of these wastes (Barriuso et al., 2011; Crohn, 1996). The current two-phase olive processing technology generates in Spain a great amount (4 000 000 Mg yr⁻¹) of a solid byproduct known as *alperujo* or olive-mill waste (OMW), which is rich in organic matter and whose disposal without affecting the environment represents a problem for the industry (Alburquerque et al., 2004; López-Piñero et al., 2007; Morillo et al., 2009). The main components of the organic fraction of OMW are lignin (32–56%), hemicellulose

* Corresponding author. Tel.: +34 954624711; fax: +34 954624002.
E-mail address: rcelis@irnas.csic.es (R. Celis).

(27–42%), cellulose (14–25%), fats (8–20%), proteins (4–11%), water-soluble carbohydrates (1–16%), and water-soluble phenols (1–2%) (Albuquerque et al., 2004). An alternative for the disposal of this waste is its application to agricultural soils, which has been shown to improve soil structure, increase soil fertility, and control soil erosion (Albuquerque et al., 2004; Brunetti et al., 2005; Lozano-García et al., 2011). In this regard, soil amendment with OMW could be particularly beneficial since most olive oil producing countries are exposed to desertification. In contrast to other organic residues, OMW has very low concentrations of heavy metals and pathogenic microorganisms (Albarrán et al., 2003; Cabrera et al., 2009), and several studies have shown that, due to its high content in organic matter, OMW has high sorptive capacity for many pesticides, which can reduce the offsite movement of herbicides applied to agricultural soils (Albarrán et al., 2003; Cabrera et al., 2007; Cox et al., 1997; Delgado-Moreno et al., 2007; López-Piñero et al., 2011).

Fluometuron (FM) and terbutylazine (TA) are applied together for preemergence and early postemergence annual weed control in olive tree cultures in Spain. The fate of TA and FM in soils differs due to their different chemical nature. The water solubility of FM (110 mg L^{-1}) is considerably higher than that of TA (8.5 mg L^{-1}), and FM is less sorbed in soils ($K_{oc} = 31\text{--}117 \text{ L kg}^{-1}$) than TA ($K_{oc} = 162\text{--}278 \text{ L kg}^{-1}$) (Tomlin, 2006). The half-lives of TA and FM in soils have been reported to range between a few days to several months, depending on soil characteristics, previous herbicide applications, and environmental conditions (Gámiz et al., 2010, 2012; López-Piñero et al., 2011; Tomlin, 2006).

Several studies have been conducted to assess the persistence and leaching of TA in OMW-amended soils under laboratory and field conditions (Cabrera et al., 2007, 2009; Dolaptsoglou et al., 2010; López-Piñero et al., 2011). However, there are no published results on how TA runoff losses are affected by OMW addition to soil or on its environmental fate when applied in combination with the herbicide FM. Information on the effect of OMW addition on the fate of the herbicide FM in soils is very scarce (Cabrera et al., 2011), with lack of data under real field conditions. The objective of this study was to assess the effect of OMW addition to a Mediterranean olive grove soil on the sorption, persistence, and mobility of a commercial formulation containing TA and FM, in the context of identifying possible environmental benefits from the addition of OMW in reducing the risk of ground and surface water contamination by herbicides used for weed control in olive groves.

2. Materials and methods

2.1. Soil, organic amendment, and herbicides

The soil was a sandy clay loam soil from an olive grove of an experimental farm located in Sevilla (SW Spain). The 0–20 cm soil layer contained 72 ± 1% sand, 7 ± 1% silt, 21 ± 1% clay, 3.5 ± 0.2% CaCO_3 , 1.0 ± 0.2% organic carbon, and pH = 8.5 ± 0.1. The experimental site was a controlled area of 12 m² carefully selected for having a uniform slope (~5%), the same management history, and on the basis of laboratory measurements which indicated negligible spatial variability in soil physicochemical characteristics and in sorption behavior with regard to TA and FM. For the laboratory experiments, untreated soil samples taken from the top 0–20 cm layer were air-dried, sieved to pass a 2 mm-aperture mesh, and used within one week after sampling.

A fresh (uncomposted) olive-mill waste (OMW) from an olive-processing factory located in Osuna (Sevilla, Spain) was used to amend the soil. For laboratory experiments, the residue was air-dried and ground to pass a 2 mm-aperture sieve prior to use. For the field experiment, the air-dried residue was manually added to the soil surface as pellets with a size of about 1 cm. The elemental analysis of the OMW revealed a C content of 43.8% and a N content of 1.8%.

The commercial formulation containing TA and FM used in the laboratory and field experiments was Athado Olivo (concentrated suspension, 23% TA and 23% FM) purchased from Probelte, S.A. High-purity standards of TA and FM purchased from Sigma-Aldrich (Spain) were used to prepare the external calibration curves for herbicide analysis.

2.2. Laboratory experiments

Terbutylazine and fluometuron sorption isotherms on unamended and OMW-amended soil samples were obtained by the batch equilibration procedure using glass centrifuge tubes lined with screw caps. For this purpose, triplicate 4 g of soil samples, either unamended or amended with OMW at rates of 5 and 10% (w/w), were shaken at 20 ± 2 °C for 24 h with 8 mL of commercial TA + FM solutions containing both herbicides at initial concentrations (C_{in}) ranging between 0.1 and 2 mg L⁻¹. After shaking, the suspensions were centrifuged, filtered, and the supernatant solutions were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) to determine the apparent (24 h) equilibrium concentration (C_e) for each herbicide. The amount of TA and FM sorbed, C_s (mg kg⁻¹), was calculated from the difference between the initial and the apparent equilibrium concentrations. A Freundlich isotherm ($C_s = K_f C_e^{1/n}$) was fitted to the measured sorption data using a log-log linear fit, and the Freundlich coefficients, K_f and $1/n$, were calculated.

The persistence of TA and FM in unamended and OMW-amended soil samples under controlled laboratory conditions was determined by incubation experiments in which 100 g of unamended or OMW-amended soil samples (5 and 10% w/w) were spiked with the commercial formulation of TA and FM at a rate of 3 mg of each active ingredient kg⁻¹ soil. The spiked soil samples were incubated in glass jars at 20 ± 2 °C for 52 days. The moisture content of the soil was maintained at a constant level (~30% or ~0.02 MPa) throughout the experiment by adding distilled water as necessary. Once a week, triplicate 3 g-soil aliquots were sampled using a sterilized spatula and frozen immediately until analyzed. Terbutylazine and fluometuron residues in the 3 g soil-aliquots were determined by extraction with 8 mL of methanol (24 h shaking), followed by centrifugation and analysis of the supernatant by HPLC. This extraction procedure recovered >95% of the herbicides freshly applied to the soils. Differences between the amount of TA and FM added to the soil and the amounts extracted with methanol were assumed to be due to degradation and/or formation of strongly-bound herbicide residues (Albarrán et al., 2003). Incubation data were fitted to first-order herbicide dissipation kinetics: $\ln C = \ln C_0 - k \cdot t$, where C (mg kg⁻¹) is the herbicide concentration in the soil at time t (days), C_0 (mg kg⁻¹) is the herbicide concentration at time zero, and k (days⁻¹) is the first-order dissipation constant. The half-life ($t_{1/2}$) was calculated as $t_{1/2} = 0.693/k$.

2.3. Demonstration field experiment

Two 4 m long × 1 m wide plots separated by a distance of 4 m were defined in the experimental site with 15 cm-high stainless steel frames which were pushed 5 cm into the soil. Prior to the experiment, weeds were removed and the plots were tilled to a 20 cm depth. Then, one of the plots was amended with OMW at a rate of 10 kg m⁻², mixing with the top 0–5 cm soil, whereas the other plot remained unamended and served as a control. For treatment and sampling, each plot was divided into four 1 × 1 m subplots. The OMW application rate used was within the range of 2–20 kg m⁻² used in previous studies (Albarrán et al., 2003; Cabrera et al., 2007; Delgado-Moreno et al., 2007; López-Piñero et al., 2011), and according to its composition, it was calculated that the OMW increased the organic C content of the top 0–5 cm soil layer from 1.0 up to 6.7%. The commercial formulation containing TA and FM was applied to the plots at a rate of 0.3 g active ingredient (a.i.) m⁻² (3 kg a.i. ha⁻¹) dissolved in 4 L of water. Herbicide application was

carried out on November 27, 2008. Temperature and natural rainfall were recorded in the course of the experiment. No artificial watering was applied to the plots.

At selected times, i.e. 0, 6, 20, 42, 68 and 102 days from herbicide application, quadruplicate soil samples were taken from each plot. Sampling times were selected on the basis of the rainfall events which occurred during the experiment. Each sample consisted of four subsamples taken at 0–5, 5–10, 10–20 and 20–30 cm depths using a 3 cm-internal diameter spade. Each soil subsample was immediately frozen until extracted in triplicate by shaking 5 g of soil with 10 mL of methanol for 24 h. After shaking, the suspensions were centrifuged, filtered, and the methanolic extracts analyzed by HPLC to determine the concentration (mg kg^{-1} dry soil) of TA and FM at different soil depths. Triplicate aliquots of 1 g of each soil sample were dried at 100°C to determine their water content. It was previously confirmed that the soil plots contained no detectable amounts of TA and FM prior to the experiment. Soil extraction data were fitted to first-order herbicide dissipation kinetics: $\ln C = \ln C_0 - k \cdot t$, where C (mg kg^{-1}) was the average herbicide concentration in the top 0–30 cm of soil at time t (days), C_0 (mg kg^{-1}) the herbicide concentration at time zero, and k (days^{-1}) the first-order dissipation constant. The half-life ($t_{1/2}$) of the herbicides in the topsoil (0–30 cm) was calculated as $t_{1/2} = 0.693/k$.

Runoff water was collected using a tank installed at the downslope end of each plot. After each runoff event, the volume of runoff water collected in the tanks was measured, and a representative sample was taken for its immediate analysis. Because the runoff water coming from the four subplots was combined in a sole trap, a statistical comparison between the two treatments could not be made, and thus runoff data should be considered as preliminary. For the analysis, triplicate 25-mL of runoff water aliquots were filtered under vacuum using $0.45\ \mu\text{m}$ membrane filters, and then analyzed by HPLC to determine the solution concentrations of TA and FM. In addition, the particulate matter remaining on the filters was weighed, extracted with 16 mL of methanol, and then the methanolic extract was analyzed by HPLC to determine the amount of TA and FM associated with particles suspended in the runoff water samples.

2.4. Analysis of herbicides

The analysis of TA and FM in methanolic extracts and runoff water was carried out by HPLC using a Waters chromatograph coupled to a Waters 600E System Controller, a Waters 998 Photodiode Array Detector, and a Waters 717 Autosampler injector. The following chromatographic conditions were used: Nova-Pack C18 chromatographic column of 150 mm length \times 3.9 mm internal diameter and $4\ \mu\text{m}$

particle size (Waters), 50 μL injection volume, 50:50 acetonitrile: water isocratic eluent mixture at a flow rate of $1\ \text{mL min}^{-1}$, and UV detection at 220 nm for TA and 243 nm for FM. Five standard solutions containing TA and FM at concentrations ranging between 0.01 and $4\ \text{mg L}^{-1}$ were used for quantification. The limits of quantification, calculated as the herbicide concentrations resulting in a signal to noise ratio of 10:1, were $0.005\ \text{mg L}^{-1}$ for TA and $0.01\ \text{mg L}^{-1}$ for FM.

3. Results and discussion

3.1. Laboratory experiments

Fig. 1 shows TA and FM sorption isotherms on unamended and OMW-amended soil samples. Sorption coefficients, K_d and $1/n_k$, resulting from fitting sorption isotherm data to the Freundlich equation are given in Table 1. While there was insignificant preexisting variability in TA and FM sorption on soil samples taken from the two original (untreated) field plots, addition of OMW at rates of 5 and 10% (w/w) greatly enhanced the sorption of both herbicides by the soil and, apparently, also increased the nonlinearity ($1/n_k < 1$) of both TA and FM sorption (Fig. 1, Table 1). The increase in sorption of TA upon amendment of the soil with OMW was similar to that reported in previous laboratory studies, and can be attributed to the high affinity of OMW for this herbicide (Cabrera et al., 2007; Delgado-Moreno et al., 2007; López-Piñero et al., 2011). Fluometuron was sorbed to a lesser extent by all unamended and OMW-amended soil samples compared to TA. Normalization of the K_d values to the organic carbon content of the unamended and OMW-amended soil samples yielded K_{doc} values in the range of $140\text{--}176\ \text{L kg}^{-1}$ for TA and $30\text{--}35\ \text{L kg}^{-1}$ for FM (Table 1), which were consistent with literature values for the sorption of these pesticides in soils (Tomlin, 2006).

Terbutylazine and fluometuron dissipation curves in unamended and OMW-amended soil samples are given in Fig. 2. Terbutylazine displayed a long persistence in unamended and OMW-amended soil samples; less than 20% of the herbicide was dissipated after an incubation period of 52 days (Fig. 2). Cabrera et al. (2007) studied the effect of OMW addition to a coarse-textured Mediterranean soil on TA dissipation under laboratory conditions and also found that the dissipation of the herbicide in unamended and OMW-amended soil samples accounted for less than 20% after 30 days. The data in Fig. 2 show that FM dissipated faster than TA in unamended soil ($t_{1/2} = 63 \pm 7$ days); however, the persistence of FM was greatly enhanced upon OMW addition, resulting in negligible dissipation of the herbicide during the 52 day-incubation period (Fig. 2). We noted that the decline in FM concentration observed in unamended

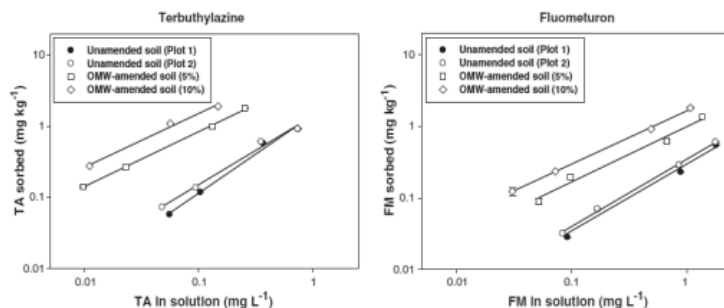


Fig. 1. Terbutylazine (TA) and fluometuron (FM) sorption isotherms on unamended and OMW-amended soil samples. Error bars indicate standard errors of triplicate measurements.

Please cite this article as: Gámiz B, et al, Effect of olive-mill waste addition to soil on sorption, persistence, and mobility of herbicides used in Mediterranean olive grove..., Sci Total Environ (2012), doi:10.1016/j.scitotenv.2012.04.038

Table 1

Freundlich coefficients for terbutylazine (TA) and fluometuron (FM) sorption by unamended and OMW-amended soil samples.

	TA				FM			
	K_f	$1/n_f$	R^2	K_{OC}^a	K_f	$1/n_f$	R^2	K_{OC}^a
Unamended soil (Plot 1)	1.4 (1.2–1.7) ^b	1.10 ± 0.08 ^b	0.989	140	0.30 (0.27–0.34)	0.93 ± 0.08	0.985	30
Unamended soil (Plot 2)	1.4 (1.2–1.6)	0.97 ± 0.07	0.989	140	0.35 (0.33–0.37)	0.94 ± 0.03	0.998	35
Soil + OMW (5%)	5.0 (4.6–5.2)	0.77 ± 0.02	0.999	165	1.00 (0.87–1.15)	0.77 ± 0.08	0.981	33
Soil + OMW (10%)	8.6 (6.9–10.8)	0.76 ± 0.07	0.992	176	1.66 (1.60–1.72)	0.74 ± 0.02	0.999	34

^a K_{OC} : Organic carbon-normalized K_f value.^b Standard errors about the coefficients.

soil during the incubation experiment was accompanied by an increase in the concentration of desmethylfluometuron (DMF), a metabolite resulting from the microbial degradation of FM. This indicated that biodegradation was a major cause of FM dissipation in unamended soil. Previous work has shown that FM in soil is dissipated mainly by microbial degradation, with formation of the metabolites DMF, trifluoromethylphenylurea (TFMPU), and trifluoromethylaniline (TFMA) (Bozarth and Funderburk, 1971; Gámiz et al., 2010; Lancaster et al., 2008; Locke et al., 2007).

3.2. Field experiment

3.2.1. Environmental conditions

Temperature and rainfall data in the course of the field experiment are shown in Fig. 3. Temperatures were relatively low as a result of the winter season in which the experiment was conducted. The maximum daily temperatures ranged between 7.6 and 24.9 °C with an average of 15.2 °C, while the minimum daily temperatures ranged between –3.4 and 13.6 °C with an average of 4.9 °C. The total rainfall during the 102 days of experiment was 270 mm with peaks of 55 and 36 mm occurring at 66 and 70 days, respectively, from herbicide application. Therefore, the most intense rainfall events occurred at relatively long times after herbicide application.

3.2.2. Herbicide persistence and leaching

The concentrations of TA and FM (mg kg^{-1} dry soil) in different soil layers of unamended and OMW-amended plots as a function of time from herbicide application are shown in Figs. 4 and 5. For both the unamended and OMW-amended plots and for all sampling times, the highest amounts of TA and FM were always found in the top 0–5 cm soil layer. This reflected limited leaching of both herbicides, most likely due to the fact that rainfall was moderate up to long times since the herbicides were applied to the plots. It should also be noted that the concentrations (mg kg^{-1}) of TA and FM in the top 0–5 cm of soil just after herbicide application ($t=0$) for the OMW-amended plot

($\sim 8 \text{ mg kg}^{-1}$) were two-fold greater compared to the unamended plot ($\sim 4 \text{ mg kg}^{-1}$). This was attributed to the low bulk density of OMW ($\sim 0.6 \text{ g cm}^{-3}$) compared to the soil ($\sim 1.3 \text{ g cm}^{-3}$), and to the fact that OMW accumulated within the top 0–5 cm soil layer. The initial herbicide concentration of 4 mg kg^{-1} obtained for TA and FM in the 0–5 cm soil layer of the unamended soil plot is in accordance with the expected value of 4.4 mg kg^{-1} , which can be calculated from the herbicide application rate (3 kg ha^{-1}), the soil bulk density (1.3 g cm^{-3}), and assuming that the herbicide is uniformly distributed within the top 0–5 cm soil layer.

Despite TA and FM accumulating within the 0–5 cm surface layer during the course of the experiment, the amounts of TA and FM present at deeper soil layers (5–10, 10–20, and 20–30 cm depth) indicated both herbicides moved deeper in the untreated soil plot compared to the OMW-treated plot. For instance, while TA was repeatedly detected in the 10–20 and 20–30 cm soil layers of the untreated plot along the experiment, it was rarely detected at those depths in the OMW-treated plot (Fig. 4). A similar behavior was observed for FM (Fig. 5), thus indicating OMW reduced the leaching of TA and FM in the soil, most likely as a result of the enhanced retention of these herbicides in OMW-amended soil (Fig. 1, Table 1). This result is in contrast to data recently reported by Cabrera et al. (2008a) revealing a small effect of OMW on TA sorption and leaching in a Mediterranean olive grove soil. However, it should be noted that the texture of the soil (silty clay soil: 6% sand, 42% silt, 52% clay, 1.07% organic carbon) and the OMW application rate ($\sim 2 \text{ kg m}^{-2}$) used by Cabrera et al. (2008a) differed from those used in the present study. Other studies have shown that organic matter is a primary sorbent for TA and FM and that organically-amended soils display enhanced sorption of these herbicides both under laboratory and field conditions (Cabrera et al., 2007, 2009; Delgado-Moreno et al., 2007; Dolaptsoglou et al., 2010; Locke et al., 2007; López-Piñeiro et al., 2011; Mueller et al., 1992; Savage and Wauchope, 1974).

Also in agreement with the results of the laboratory experiments (Fig. 2), addition of OMW had distinct effects on the field persistence

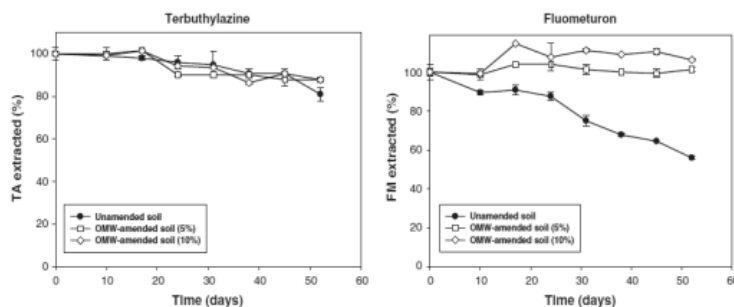


Fig. 2. Terbutylazine (TA) and fluometuron (FM) dissipation curves in unamended and OMW-amended soil samples. Error bars indicate standard errors of triplicate measurements.

Please cite this article as: Gámiz B, et al, Effect of olive-mill waste addition to soil on sorption, persistence, and mobility of herbicides used in Mediterranean olive grove..., Sci Total Environ (2012), doi:10.1016/j.scitotenv.2012.04.038

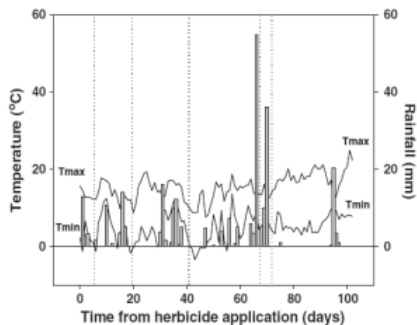


Fig. 3. Rainfall (bars) and temperatures (lines) during the field experiment. Vertical dotted lines indicate runoff water sampling days.

of TA and FM. Terbutylazine displayed a long persistence both in the unamended and in the OMW-amended soil plots (Fig. 4). At the end of the experiment ($t = 102$ days), 40–50% of the TA extracted at $t = 0$ was still present in both plots (Fig. 4). Applying first-order kinetics to the changes in TA concentration in the top 0–30 cm of soil with time, we obtained half-lives ($t_{1/2}$) of 114 days for the unamended soil and 72 days for the OMW-amended soil, but the fitting of the experimental data to the model was very poor ($R^2 < 0.78$), making the

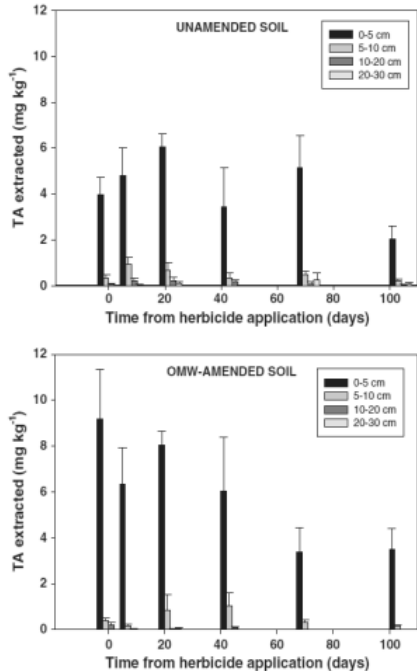


Fig. 4. Terbutylazine (TA) concentrations (mg kg^{-1}) at different soil depths of unamended and OMW-amended field plots as a function of time after herbicide application. Error bars correspond to the standard errors of quadruplicate soil samples.

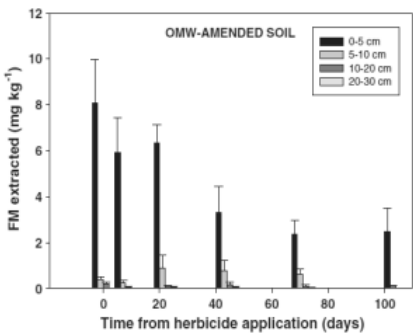
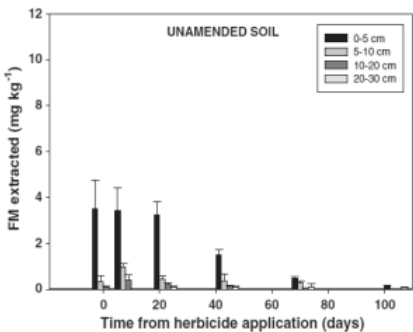


Fig. 5. Fluometuron (FM) concentrations (mg kg^{-1}) at different soil depths of the unamended and OMW-amended field plots as a function of time after herbicide application. Error bars correspond to the standard errors of quadruplicate soil samples.

estimate of $t_{1/2}$ values uncertain. The half-lives for TA in soils have been reported to range between a few days and several months depending on soil characteristics, previous herbicide treatments, and environmental conditions (López-Piñero et al., 2011; Tomlin, 2006). Longer half-lives for TA have been reported in coarse-textured, Mediterranean soils, similar to that used in this study (Cabrera et al., 2007). The low temperatures occurring during our experiment should have further contributed to prolong the persistence of TA in the present study.

Fluometuron dissipated more rapidly than terbutylazine, with a marked decrease in FM soil concentrations at sampling times ≥ 40 days (Fig. 5). The decrease in the soil concentrations of FM in the unamended soil plot was more pronounced compared to the OMW-amended plot (Fig. 5). This indicated that OMW prolonged the

Table 2
Volume and particulate matter concentration of runoff water collected from the unamended and OMW-amended soil plots.

Sampling time (days)	Unamended plot		OMW-amended plot	
	Volume collected (mm)	Particulate matter (g L^{-1})	Volume collected (mm)	Particulate matter (g L^{-1})
6	0.010	2.78 ± 0.26^a	0.025	2.46 ± 0.17
20	0.068	1.89 ± 0.05	0.148	1.78 ± 0.09
42	0.005	0.68 ± 0.02	0.092	0.45 ± 0.02
68	0.812	1.08 ± 0.03	0.650	0.79 ± 0.10
71	6.000	0.44 ± 0.29	1.625	1.33 ± 0.06

^a Mean \pm standard error of triplicate water samples.

Table 3
Terbutylazine (TA) concentration in solution and in suspended particulate matter of runoff water collected from the unamended and OMW-amended soil plots. Apparent distribution coefficients, K_d , for TA adsorption on runoff particulate matter.

Day	Unamended plot			OMW-amended plot		
	TA in solution (mg L ⁻¹)	TA in particulate matter (mg kg ⁻¹)	K_d (L kg ⁻¹)	TA in solution (mg L ⁻¹)	TA in particulate matter (mg kg ⁻¹)	K_d (L kg ⁻¹)
6	0.32 ± 0.04 ^a	102.4 ± 1.4	320	0.02 ± 0.01	14.1 ± 0.3	705
20	0.58 ± 0.04	120.6 ± 1.6	208	0.01 ± 0.00	6.57 ± 0.8	657
42	0.22 ± 0.02	229.4 ± 1.1	1043	0.01 ± 0.00	23.6 ± 2.5	2360
68	0.10 ± 0.01	46.1 ± 5.0	461	0.01 ± 0.00	– ^b	–
71	0.03 ± 0.01	38.8 ± 8.0	1293	0.03 ± 0.01	12.23 ± 0.2	408

^a Mean ± standard error of triplicate water samples.

^b Not detected.

persistence of FM in the topsoil, probably due to enhanced sorption and reduced degradation of the herbicide, as supported by the results of the laboratory experiments (Figs. 1 and 2). Applying first-order kinetics to the experimental data, we obtained half-lives of 24 days for FM in the top 0–30 cm of the unamended field plot and of 58 days in the OMW-amended plot, with a very good fitting of the experimental data to the model ($R^2 = 0.92$). Faster dissipation of FM under field conditions compared to laboratory conditions (Fig. 2) can be explained taking into account that several dissipation routes, such as leaching, volatilization or runoff, accounted for the dissipation of the herbicide in the field, but not in the laboratory.

Fluometuron is degraded primarily by soil microorganisms (Bozarth and Funderburk, 1971; Lancaster et al., 2008; Locke et al., 2007), and higher organic matter contents are often associated with greater microbial activity (Mueller et al., 1992). Accordingly, previous work has shown greater rates of FM degradation in amended soils (i.e., poultry litter, corneal, or ryegrass amendment) or glucose addition compared to unamended soils (Bouchard et al., 1982; Bozarth and Funderburk, 1971; Mueller et al., 1992; Wagner and Zablotowicz, 1997). However, the increase in persistence of FM upon OMW addition found in this work could be also related to the increase in organic matter content, since an increase in carbon substrate availability for microbial biomass and a reduction in herbicide bioavailability by its sorption to OMW would reduce biodegradation and prolong herbicide persistence in the OMW-amended soil (Albarrán et al., 2003; Cabrera et al., 2007, 2008b; López-Piñeiro et al., 2011). In fact, several field experiments on mobility and degradation of FM in agricultural soils have shown prolonged persistence of the herbicide in cases where the amount of organic matter was greater, either by tillage or the presence of cover crops, due to an increase in the sorption phenomenon (Brown et al., 1994; Lancaster et al., 2008; Locke et al., 2007; Zablotowicz et al., 2000).

3.2.3. Herbicide runoff

The results of the analysis of runoff water collected from the unamended and OMW-amended plots are summarized in Tables 2–4

and Figs. 6 and 7. The initial runoff events were of low to moderate intensity (Table 2). The most intense runoff events resulted from heavy rain occurring at 66 and 70 days after herbicide treatment (Fig. 3). Nevertheless, the highest concentrations of TA and FM, both in solution and associated with suspended particulate matter, were found in the first runoff events (Tables 3 and 4, Fig. 6), confirming that herbicide runoff becomes particularly relevant when it occurs shortly after herbicide application, before the herbicide degrades and/or moves vertically into the soil profile and becomes less available for runoff (Baughman et al., 2001; Hermosin et al., 2009; Leonard, 1990; Wiese et al., 1980).

In the first runoff events, i.e. those occurring at 6, 20, and 42 days after herbicide application, the solution and particle-associated concentrations of FM in runoff water from the unamended soil plot were greater than those found for TA (Tables 3 and 4, Fig. 6), probably because the runoff losses were dominated by the dissolved concentration of the herbicides in the uppermost centimeters of the soil. Considering the sorption parameters reported in Table 1, the dissolved concentrations of FM were expected to be considerably greater than those of TA. For the last runoff events, at 68 and 71 days after herbicide application, the solution and particle-associated concentrations of TA were similar or even greater than those of FM, most likely reflecting the greater concentrations of TA in the surface (0–5 cm) soil layer compared to FM at such sampling times, as a result of the longer persistence of TA in the field plots (Baughman et al., 2001). An apparent distribution coefficient for the herbicides between the solid and solution phases in the collected runoff water, K_d , was calculated dividing the amount of sorbed herbicide by the solution herbicide concentration (Tables 3 and 4). In all runoff events, TA displayed greater K_d values than FM, revealing its higher sorptivity and hence its higher tendency to be transported by suspended particulate matter (Potter et al., 2006). In this regard, it should also be noted that the cumulative amount of particulate matter lost in runoff water during our experiment decreased from 14.7 ± 0.5 g for the unamended soil to 12.2 ± 0.4 g for the OMW-amended soil, with the highest soil losses occurring during the two most intense rainfall events at 68 and 71 days of the experiment (Table 2). This result

Table 4
Fluometuron (FM) concentration in solution and in suspended particulate matter of runoff water collected from the unamended and OMW-amended soil plots. Apparent distribution coefficients, K_d , for FM adsorption on runoff particulate matter.

Day	Unamended plot			OMW-amended plot		
	FM in solution (mg L ⁻¹)	FM in particulate matter (mg kg ⁻¹)	K_d (L kg ⁻¹)	FM in solution (mg L ⁻¹)	FM in particulate matter (mg kg ⁻¹)	K_d (L kg ⁻¹)
6	0.81 ± 0.04 ^a	118.1 ± 0.6	146	0.04 ± 0.01	3.2 ± 0.8	80
20	2.26 ± 0.04	169.7 ± 0.3	75	0.05 ± 0.01	8.5 ± 2.6	170
42	1.10 ± 0.02	735.2 ± 2.0	668	0.05 ± 0.01	32.5 ± 5.8	650
68	0.10 ± 0.01	19.6 ± 2.0	196	0.02 ± 0.00	10.3 ± 2.3	515
71	0.01 ± 0.01	– ^b	–	0.10 ± 0.01	13.9 ± 0.3	139

^a Mean ± standard error of triplicate water samples.

^b Not detected.

Please cite this article as: Gámiz B, et al, Effect of olive-mill waste addition to soil on sorption, persistence, and mobility of herbicides used in Mediterranean olive grove..., Sci Total Environ (2012), doi:10.1016/j.scitotenv.2012.04.038

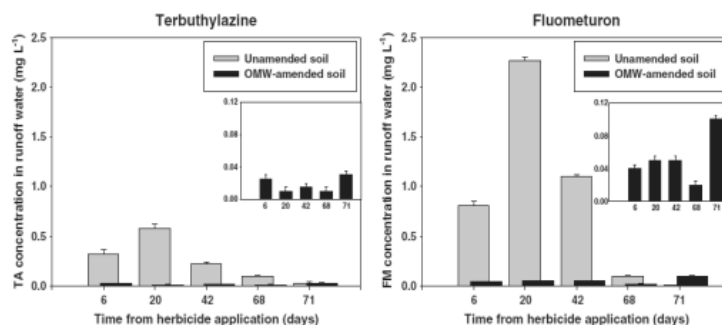


Fig. 6. Terbutylazine (TA) and fluometuron (FM) solution concentrations in runoff water from the unamended and OMW-amended field plots. Error bars correspond to the standard errors of triplicate water samples.

may reflect the protective effect against soil erosion induced by OMW addition to soil, particularly during heavy rainfall events (Lozano-García et al., 2011).

One of the most interesting features of the herbicide runoff data is that for all samples collected, TA and FM solution concentrations in runoff water from the untreated plot were from 5 to 60 times greater than those in runoff water from the OMW-treated-plot (Fig. 6). A similar result was observed for particle-associated herbicide, where sorbed TA and FM concentrations were 2 to 40 times greater for the unamended plot compared to the OMW-amended plot (Tables 3 and 4). The only exception was the sample collected from the OMW-amended plot 71 days after herbicide application, which contained more FM than that collected from the unamended plot. This was because most FM had dissipated in the unamended soil plot at 71 days after application (Fig. 5).

The total amount of TA lost by runoff process during the experiment, calculated as the sum of dissolved and particle-associated herbicide, was $0.16 \pm 0.03\%$ of the applied herbicide for the unamended plot and $0.03 \pm 0.01\%$ for the OMW-amended plot. For FM, the total herbicide losses by runoff were $0.12 \pm 0.02\%$ for the unamended plot and $0.08 \pm 0.01\%$ for the OMW-amended plot (Fig. 7). The general decrease in herbicide runoff losses by treatment with OMW was probably caused by an increase in the retention capacity of the soil after OMW addition (Fig. 1). Apparently, the high concentrations of dissolved organic matter in runoff water collected from the OMW-amended plot, evidenced by the

darkness of the runoff water samples, did not contribute significantly to facilitate the transport of TA and FM by runoff process.

4. Conclusions

Addition of OMW to a Mediterranean olive grove soil increased the sorption of the herbicides terbutylazine and fluometuron, prolonged the persistence of fluometuron, and had little effect on the persistence of terbutylazine in the soil under laboratory conditions. Data obtained under real field conditions were consistent with those obtained under controlled laboratory conditions, since they indicated that OMW reduced the vertical movement and runoff of terbutylazine and fluometuron most likely because the enhanced herbicide sorption resulting from OMW addition to the soil prevented herbicide leaching and runoff. Furthermore, the soil persistence of fluometuron under field conditions was also prolonged by OMW addition, whereas the persistence of terbutylazine was long and not significantly different in unamended- and OMW-amended soil. Accordingly, the results of this study indicate that soil amendment with OMW could be beneficial in reducing the risk of ground and surface water contamination associated with the use of terbutylazine and fluometuron in olive groves and similar high-risk scenarios of ground and surface water contamination, as well as to prolong the persistence of fluometuron in soils where its rapid degradation could result in reduced weed control efficacy.

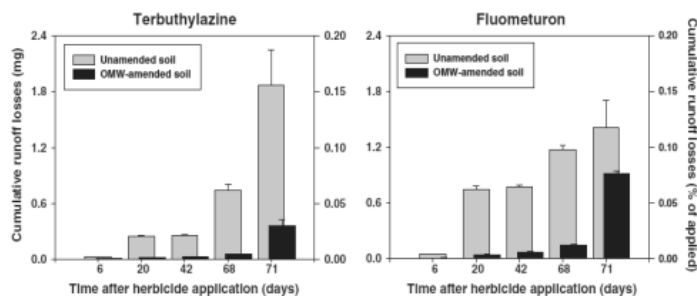


Fig. 7. Cumulative runoff losses of terbutylazine and fluometuron from the unamended and OMW-amended soil plots during the field experiment. Error bars correspond to the standard errors of triplicate water samples.

Please cite this article as: Gámiz B, et al, Effect of olive-mill waste addition to soil on sorption, persistence, and mobility of herbicides used in Mediterranean olive grove..., Sci Total Environ (2012), doi:10.1016/j.scitotenv.2012.04.038

Acknowledgements

This work has been financed by Junta de Andalucía (Project P07-AGR-03077 and Research Group AGR-264) and the Spanish Ministry of Science and Innovation (Projects AGL2008-04031-C02-01 and AGL2010-21421-C02-01), cofinanced with European FEDER-FSE funds (OP 2007–2013). The authors thank G. Facenda and J.A. Moreno for technical assistance. B. Gámiz also thanks Junta de Andalucía for her FPI fellowship, cofinanced with European FSE funds.

References

- Albarrán A, Celis R, Hermosín MC, López-Piñero A, Ortega-Calvo JJ, Cornejo J. Effects of solid olive-mill waste addition to soil on sorption, degradation and leaching of the herbicide simazine. *Soil Use Manage* 2003;19:150–6.
- Albuquerque JA, González J, García D, Cegarra J. Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour Technol* 2004;91:195–200.
- Arias-Estévez M, López-Peña E, Martínez-Carballo E, Simal-Gándara J, Mejuto JC, García-Río L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agric Ecosyst Environ* 2008;123:247–60.
- Barriuso E, Andrades MS, Benoit P, Houot S. Pesticide desorption from soils facilitated by dissolved organic matter coming from composts: experimental data and modeling approach. *Biogeochemistry* 2011;106:117–33.
- Baughman TA, Shaw DR, Webster EP, Boyette M. Effect of cotton (*Gossypium hirsutum*) tillage systems on off-site movement of fluometuron, norflurazon, and sediment in runoff. *Weed Technol* 2001;15:184–9.
- Bouchard DC, Lavy TL, Marx DB. Fate of metribuzin, metolachlor, and fluometuron in soil. *Weed Sci* 1982;30:629–32.
- Bozarth GA, Funderburk Jr HH. Degradation of fluometuron in sandy loam soil. *Weed Sci* 1971;19:691–5.
- Brown BA, Hayes RM, Tyler DD, Mueller CT. Effect of tillage and cover crop on fluometuron adsorption and degradation under controlled conditions. *Weed Sci* 1994;42:629–34.
- Brunetti G, Plaza C, Senesi N. Olive pomace amendment in Mediterranean conditions: effect on soil and humic acid properties and wheat (*Triticum turgidum* L.) yield. *J Agric Food Chem* 2005;53:6730–6.
- Cabrera A, Cox L, Velarde P, Koskinen WC, Cornejo J. Fate of diuron and terbutylazine in soils amended with two-phase olive oil mill waste. *J Agric Food Chem* 2007;55:4828–34.
- Cabrera A, Cox L, Koskinen WC, Sadowsky MJ. Availability of triazine herbicides in aged soils amended with olive oil mill waste. *J Agric Food Chem* 2008a;56:4112–9.
- Cabrera A, Cox L, Velarde P, Cornejo J. Terbutylazine persistence in an organic amended soil. *J Environ Sci Health B* 2008b;43:713–6.
- Cabrera A, Cox L, Fernández-Hernández A, García-Ortiz C, Cornejo J. Field appraisal of olive mills solid waste application in olive crops: effect on herbicide retention. *Agric Ecosyst Environ* 2009;132:260–6.
- Cabrera A, Cox L, Spokas KA, Celis R, Hermosín MC, Cornejo J, et al. Comparative sorption and leaching study of the herbicides fluometuron and 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA) in a soil amended with biochars and other sorbents. *J Agric Food Chem* 2011;59:12550–60.
- Celis R, Trigo C, Facenda G, Hermosín MC, Cornejo J. Selective modification of clay minerals for the adsorption of herbicides widely used in olive groves. *J Agric Food Chem* 2007;55:6650–8.
- Cox L, Celis R, Hermosín MC, Becker A, Cornejo J. Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive mill wastewater. *Agric Ecosyst Environ* 1997;65:151–61.
- Crohn DM. Planning biosolids land application rates for agricultural systems. *J Environ Eng* 1996;122:1058–66.
- Delgado-Moreno L, Sánchez-Moreno L, Peña A. Assessment of olive cake as soil amendment for the controlled release of triazine herbicides. *Sci Total Environ* 2007;378:119–23.
- Dolaptsoglou C, Karpouzias DG, Menkissoglu-Spiroudi U, Eleftherohorinos I, Voudrias EA. Influence of different organic amendments on the leaching and dissipation of terbutylazine in a column and a field study. *J Environ Qual* 2010;38:782–91.
- Gámiz B, Celis R, Hermosín MC, Cornejo J. Organoclay as soil amendments to increase the efficacy and reduce the environmental impact of the herbicide fluometuron in agricultural soils. *J Agric Food Chem* 2010;58:7893–901.
- Gámiz B, Celis R, Hermosín MC, Cornejo J. Soil clay modification with spermine and its effect on the behavior of the herbicide fluometuron. *Soil Sci Soc Am J* 2012;76:432–40.
- Hapeman CJ, McConnell LL, Rice CP, Sadeghi AM, Schmidt WF, McCarty GW, et al. Current United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service research on understanding agrochemical fate and transport to prevent and mitigate adverse environmental impacts. *Pest Manag Sci* 2003;59:681–90.
- Hermosín MC, Rodríguez-Lizana A, Cornejo J, Ordóñez-Fernández R. Efecto del uso de agroquímicos en olivar sobre la calidad de las aguas. In: Gómez-Calero JA, editor. *Sostenibilidad de la Producción de Olivar en Andalucía*. Sevilla: Junta de Andalucía; 2009. p. 87–108.
- Herrero-Hernández E, Andrades MS, Marín-Benito JM, Sánchez-Martín MJ, Rodríguez-Cruz MS. Field-scale dissipation of tebuconazole in a vineyard soil amended with spent mushroom substrate and its potential environmental impact. *Ecotoxicol Environ Saf* 2011;74:1480–8.
- Krutz LJ, Sensesman SA, Zablotowicz RM, Matocha MA. Reduced herbicide runoff from agricultural fields with vegetative filter strips: a review. *Weed Sci* 2005;53:353–67.
- Lancaster SH, Haney RL, Sensesman SA, Kemerley CM, Hons FM. Microbial degradation of fluometuron is influenced by Roundup WeatherMAX. *J Agric Food Chem* 2008;56:8588–93.
- Leonard RA. Movement of pesticides into surface waters. In: Cheng H, editor. *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling*. Madison, WI: Soil Science Society of America; 1990. p. 303–20.
- Locke MA, Zablotowicz RM, Steinriede RW, Kingery WL. Degradation and sorption of fluometuron and metabolites in conservation tillage soils. *J Agric Food Chem* 2007;55:844–51.
- López-Piñero A, Murillo S, Barreto C, Muñoz A, Rato JM, Albarrán A, et al. Changes in organic matter and residual effect of amendment with two-phase olive-mill waste on degraded agricultural soils. *Sci Total Environ* 2007;378:84–9.
- López-Piñero A, Cabrera D, Albarrán A, Peña D. Influence of two-phase olive mill waste application to soil on terbutylazine behaviour and persistence under controlled and field conditions. *J Soil Sediment* 2011;11:771–82.
- Lozano-García B, Párras-Alcántara L, del Toro Carrillo de Albornoz M. Effects of oil mill wastes on surface soil properties, runoff and soil losses in traditional olive groves in southern Spain. *Catena* 2011;85:187–93.
- Morillo JA, Antizar-Ladislao B, Monteoliva-Sánchez M, Ramos-Comenzana A, Russell NJ. Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Appl Microbiol Biotechnol* 2009;82:25–39.
- Mueller CT, Moorman TB, Snipe CE. Effect of concentration, sorption, and microbial biomass on degradation of the herbicide fluometuron in surface and subsurface soils. *J Agric Food Chem* 1992;40:2517–22.
- Potter TL, Truman CC, Strickland TC, Bosch DD, Webster TM, Franklin DH, et al. Combined effects of constant versus variable intensity simulated rainfall and reduced tillage management on cotton preemergence herbicide runoff. *J Environ Qual* 2006;35:1894–902.
- Ramos MC, Porta J. Rainfall intensity and erosive potentiality in the NE Spain Mediterranean area: first results on sustainability of vineyards. *Nuovo Cimento Soc Ital Fis* 1994;17:291–9.
- Rice PJ, Rice PJ, Arthur EL, Barefoot AC. Advances in pesticide environmental fate and exposure assessments. *J Agric Food Chem* 2007;55:5367–76.
- Sánchez L, Romero E, Sánchez-Rasero F, Dios G, Peña A. Enhanced soil sorption of methidathion using sewage sludge and surfactants. *Pest Manag Sci* 2003;59:857–64.
- Savage KE, Wauchope RD. Fluometuron adsorption-desorption equilibria in soil. *Weed Sci* 1974;22:106–10.
- Tomlin CDS. *The Pesticide Manual*. 14th ed. Hampshire, U.K.: British Crop Protection Council; 2006.
- Trigo C, Celis R, Hermosín MC, Cornejo J. Organoclay-based formulations to reduce the environmental impact of the herbicide diuron in olive groves. *Soil Sci Soc Am J* 2009;73:1652–7.
- Wagner SC, Zablotowicz RM. Effect of organic amendments on the bioremediation of cyanazine and fluometuron in soil. *J Environ Sci Health B* 1997;32:37–54.
- Wiese AF, Savage KE, Chandler JM, Liu LC, Jeffery LS, Weber JB, et al. Loss of fluometuron in runoff water. *J Environ Qual* 1980;9:1–5.
- Zablotowicz RM, Locke MA, Gaston LA, Bryson CT. Interactions of tillage and soil depth on fluometuron degradation in a Dundee silt loam soil. *Soil Tillage Res* 2000;57:61–8.